



Sveučilište u Zagrebu

PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

Marija Sedak

**PRISUTNOST TOKSIČNIH METALA U  
TKIVIMA KITOVA ZUBANA (Odontoceti)  
KAO INDIKATORA ZAGAĐENJA  
MORSKOGA EKOSUSTAVA  
JADRANSKOGA MORA**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2015



University of Zagreb

FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY AND BIOTECHNOLOGY

Marija Sedak

**PRESENCE OF TOXIC METALS AS  
INDICATORS OF POLLUTION OF THE  
MARINE ECOSYSTEM IN TISSUE OF  
TOOTHED WHALE (Odontoceti) FROM THE  
ADRIATIC SEA**

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2015



Sveučilište u Zagrebu

PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

Marija Sedak

**PRISUTNOST TOKSIČNIH METALA U  
TKIVIMA KITOVA ZUBANA (Odontoceti)  
KAO INDIKATORA ZAGAĐENJA  
MORSKOGA EKOSUSTAVA  
JADRANSKOGA MORA**

DOKTORSKI RAD

Mentori:

prof.dr.sc. Branimir Šimić  
dr.sc. Nina Bilandžić, znan.savj.

Zagreb, 2015.



University of Zagreb

FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY AND BIOTECHNOLOGY

Marija Sedak

**PRESENCE OF TOXIC METALS AS  
INDICATORS OF POLLUTION OF THE  
MARINE ECOSYSTEM IN TISSUE OF  
TOOTHED WHALE (Odontoceti) FROM THE  
ADRIATIC SEA**

DOCTORAL THESIS

Supervisors:  
PhD Branimir Šimić, Full Professor  
PhD Nina Bilandžić, Scientific Adviser

Zagreb, 2015

Tema disertacije prihvaćena je na 7. redovnoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, održanoj 16.7.2012. godine.

Doktorski rad izrađen je u Laboratoriju za određivanje rezidua Hrvatskog veterinarskog instituta u Zagrebu pod mentorstvom prof.dr.sc. Branimira Šimića i dr.sc. Nine Bilandžić.

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

---

Sveučilište u Zagrebu  
Prehrambeno-biotehnološki fakultet  
Sveučilišni poslijediplomski studij Nutricionizma  
UDK: 546.3:599.53(262.3)(043.3)  
Znanstveno područje: Biotehničke znanosti  
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Doktorski rad

### PRISUTNOST TOKSIČNIH METALA KAO INDIKATORA ZAGAĐENJA MORSKOG EKOSUSTAVA U TKIVIMA KITOVA ZUBANA (Odontoceti) JADRANSKOGA MORA

*Marija Sedak, dipl.ing.*

**Rad je izrađen u:** Hrvatskom veterinarskom Institutu, Zagreb  
**Mentori:** prof.dr.sc. Branimir Šimić i dr.sc. Nina Bilandžić, znan.savj.

**Kratki sažetak:** U tkivima kitova zubana iz Jadranskoga mora (mišićno tkivo, jetra, bubreg, pluća, slezena, masno tkivo i koža) određene su koncentracije arsena, kadmija, olova, žive i selena. Obradeno je 186 dupina, od toga 25 plavobijelih, 6 glavatih i 155 dobrih dupina. Koncentracije metala određivane su grafitnom tehnikom na atomskom apsorpcijskom spektrometru, tehnikom stvaranja hidrida na atomskom apsorpcijskom spektrometru i induktivno spregnutoj plazmi-optičkoj emisijskoj spektrometriji. Budući da mnoge vrste morskih sisavaca dijele obalno okruženje s ljudima i konzumiraju istu morsku hranu (ribe i glavonošce), oni mogu poslužiti kao učinkoviti indikatori za javnozdravstvene probleme. Ovaj pristup osigurava novi put za bolje razumijevanje povezanosti ekosustava i zdravlja ljudi.

**Broj stranica:** 213  
**Broj slika:** 27  
**Broj tablica:** 47  
**Broj priloga:** 5  
**Broj literaturnih navoda:** 300  
**Jezik izvornika:** hrvatski

**Ključne riječi:** teški metali, dupini, Jadransko more

**Datum obrane:**

**Stručno povjerenstvo za obranu:**

1. izv. prof. dr. sc. Helga Medić, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu
2. doc. dr. sc. Ivana Kmetič, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu
3. doc. dr. sc. Martina Đuras, Veterinarski fakultet, Sveučilište u Zagrebu
4. izv.prof.dr.sc. Tibela Landeka Dragičević, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu

**Rad je pohranjen u:** knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta u Zagrebu, Kačićeva 23, Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici u Zagrebu, Hrvatske bratske zajednice bb., Sveučilištu u Zagrebu, Trg maršala Tita 14.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

---

**University of Zagreb**  
**Faculty of Food Technology and Biotechnology**  
**Postgraduate Study of Nutrition**  
**UDK: 546.3:599.53(262.3)(043.3)**  
**Scientific Area: Biotechnical Sciences**  
**Scientific Field: Food Technology**

**PhD Thesis**

### **PRESENCE OF TOXIC METALS AS INDICATORS OF POLLUTION OF THE MARINE ECOSYSTEM IN TISSUE OF TOOTHED WHALE (Odontoceti) FROM THE ADRIATIC SEA**

*Marija Sedak, B Sc*

**Thesis performed at:** Croatian Veterinary Institute, Zagreb

**Supervisors:** PhD Branimir Šimić, Full Professor and PhD Nina Bilandžić, Scientific Adviser

**Short abstract:** In tissues of toothed whales from the Adriatic Sea (muscle, liver, kidney, lung, spleen, adipose tissue and skin) the concentrations of arsenic, cadmium, lead, mercury and selenium were analyzed. A number of processed dolphins were 186, 25 of which are striped, 6 Risso's and 155 bottlenose dolphins. Concentrations of heavy metals were determined by graphite furnace atomic absorption spectrometer, flow injection mercury system and inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy. Since many species of marine mammals share the coastal environment with humans and consume the same seafood (fish and cephalopods), they can serve as effective indicators of public health issues. This approach provides a new way for better understanding of the relationship between ecosystems and human health.

**Number of pages:** 213

**Number of figures:** 27

**Number of tables:** 47

**Number of appendices:** 5

**Number of references:** 300

**Original in:** Croatian

**Key words:** Heavy metals, Dolphins, Adriatic sea

**Date of the thesis defense:**

**Reviewers:**

1. PhD Helga Medić, Associate Professor, Faculty of Food Technology and Biotechnology
2. PhD Ivana Kmetič, Assistant Professor, Faculty of Food Technology and Biotechnology
3. Ph.D. Martina Đuras, Assistant Professor, Veterinary Faculty
4. PhD Tibela Landeka Dragičević, Associate Professor, Faculty of Food Technology and Biotechnology

**Thesis deposited in:** Library of Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb, National and University Library, Hrvatske bratske zajednice bb, Zagreb, University of Zagreb, Trg maršala Tita 14, Zagreb.



## SAŽETAK

Životinje iz reda kitova (Cetacea) su sisavci koji cijeli svoj život provode u vodi. Kitovi (Cetacea) se ubrajaju u ugrožene životinje, a pojedine vrste i među najugroženije životinjske vrste uopće. Dugi niz godina utvrđen je značajan pad brojnosti jedinki u populacijama gotovo svih vrsta ovoga reda. Primjer toga je i Jadransko more u kome je danas stalno prisutna samo jedna vrsta kitova, dobri dupin (*Tursiops truncatus*) čija se brojnost procjenjuje na oko 220 jedinki. U Jadranskom moru povremeno borave i neke druge vrste kitova koje redovito nastanjuju Sredozemno more, a to su najčešće plavobijeli dupin (*Stenella coeruleoalba*) i glavati dupin (*Grampus griseus*).

Industrijska revolucija predstavlja polaznu točku za nadolazeću antropogenu mobilizaciju toksičnih metala iz zemljine kore (geosfere) u globalni okoliš (hidrosferu, atmosferu i biosferu). Tijekom proteklih 200 godina postupno povećanje antropogenih aktivnosti poput potrošnje fosilnih goriva, metalne industrije, taljenja, primjene umjetnih gnojiva, spaljivanje komunalnog otpada omogućili su pojavu izvora toksičnih metala u globalnom okruženju.

Rast ljudske populacije, urbanizacija, brz ekonomski razvoj i loše planiranje obalnih područja vrše pritisak na morske i obalne ekosustave uzrokujući veliki utjecaj na okoliš, kao što su oslobađanje alarmantne razine elemenata u tragovima u okoliš. Neki prirodni izvori doprinose koncentraciji ovih elemenata u vodi, ali većina dolazi iz antropogenih aktivnosti koje povećavaju njihovu mobilizaciju, cirkulaciju i ispuštanje u okoliš.

U tkivima kitova zubana iz Jadranskoga mora (mišićno tkivo, jetra, bubreg, pluća, slezena, masno tkivo i koža) određene su koncentracije arsena, kadmija, olova, žive i svena. Obrađeno je oko 186 dupina, od toga 25 plavobijelih, 6 glavatih i 155 dobrih dupina. Koncentracije kadmija, olova, arsena i svena (u slučaju da su koncentracije svena niže od 25 mg/kg) određivane su grafitnom tehnikom na atomskom apsorpcijskom spektrometru. Koncentracije žive određene su tehnikom stvaranja hidrida na atomskom apsorpcijskom spektrometru. Kod vrijednosti koncentracija svena viših od 25 mg/kg određivanje je provedeno na induktivno spregnutoj plazmi-optičkoj emisijskoj spektrometriji.

Potvrđeno je akumuliranje kadmija, arsena, svena i žive tijekom životnog vijeka. Niti jedan od dupina analiziranih u ovom istraživanju nije bio izložen koncentracijama kadmija u

jetri > 20 mg/kg mokre mase koje mogu uzrokovati zatajenje bubrega kod morskih sisavaca. Najveći dio kadmija, 50 % njegove ukupne količine u organizmu, nalazi se u jetri i bubrezima. U velikom broju jedinki utvrđene su koncentracije žive u jetri koje prelaze donju kritičnu razinu (100 mg/kg) u sve tri vrste dupina. Gornju kritičnu razinu koncentracije žive u jetri (400 mg/kg) prelazi 15,3 % jedinki dobrih dupina, 66,6 % glavatih dupina i jedan plavobijeli dupin.

Budući da mnoge vrste morskih sisavaca dijele obalno okruženje s ljudima i konzumiraju istu morsku hranu (ribe i glavonošce), oni mogu poslužiti kao učinkoviti indikatori za javnozdravstvene probleme. Ovaj pristup osigurava novi put za bolje razumijevanje povezanosti ekosustava i zdravlja ljudi.

## SUMMARY

Cetaceans are the mammals most completely adapted to life in the water. Whales (Cetaceans) are listed as endangered and threatened species. For many years, a significant drop in the number of individuals in a population of almost all species of this order was determined. An example of this is the Adriatic Sea in which today appears to be present only one species of whales, bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*), whose number is estimated at around 220 individuals. In the Adriatic Sea occasionally stay and some other whale species that regularly inhabit the Mediterranean Sea, which are usually striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) and Risso's dolphin (*Grampus griseus*).

The industrial revolution is the starting point for the coming anthropogenic immobilization of toxic metals from the earth's crust (geosphere) in the global environment (hydrosphere, atmosphere and biosphere). During the past 200 years a gradual increase in human activities such as fossil fuel, metal industry, melting, application of fertilizers, the burning of municipal waste, enabled the emergence of toxic metals sources in the global environment.

Growing human populations, urbanization, rapid economic development and bad planning of coastal areas have placed increasing pressure on marine and coastal ecosystems, causing several environmental impacts, such as the release of alarming levels of trace elements into the environment. Some natural sources contribute to the concentrations of these elements in the aquatic environment, but the great majority comes from anthropogenic activities that increase their mobilization, circulation and release into the environment.

In tissues of toothed whales from the Adriatic Sea (muscle, liver, kidney, lung, spleen, adipose tissue and skin) the concentrations of arsenic, cadmium, lead, mercury and selenium were analyzed. A total of 186 dolphins were processed, 25 of which are striped, 6 Risso's and 155 bottlenose dolphins. Concentrations of cadmium, lead, arsenic and selenium (in case that the selenium concentrations are less than 25 mg/kg) were measured by graphite furnace atomic absorption spectrometer. Concentrations of mercury was determined by flow injection mercury system. When concentrations of selenium in samples were higher than 25 mg/kg, selenium was detected with inductively coupled plasma optical emission spectroscopy.

The accumulation of cadmium, arsenic, selenium and mercury during the lifetime was confirmed. None of the dolphins analyzed in this study was not exposed to concentrations of cadmium in the liver higher than 20 mg/kg wet weight, which can cause renal failure in marine mammals. Most of the cadmium, 50% of the total amount in the body is located in liver and kidneys. Using benchmarks relevant to marine mammals this study indicated that 15.3% individuals of bottlenose dolphin, 66.6% Risso's dolphin and one striped dolphin exceed the maximum 400 mg/kg Hg threshold for hepatic damage.

Since many species of marine mammals share the coastal environment with humans and consume the same seafood (fish and cephalopods), they can serve as effective indicators of public health issues. This approach provides a new way for better understanding of the relationship between ecosystems and human health.

*Informacije o mentoru:*

Dr. sc. Branimir Šimić, umirovljeni redoviti profesor u trajnom zvanju Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

## **ŽIVOTOPIS**

Prof. dr. sc. Branimir Šimić rođen je 24. ožujka 1948. u Osijeku. 1973. godine diplomirao je na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, magistrirao 1979. pri Centru za poslijediplomski studij Sveučilišta u Zagrebu, te doktorirao u znanstvenom području Biomedicina i zdravstvo 1995. godine na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu.

Dr.sc. Branimir Šimić počeo je raditi kao mlađi istraživač suradnik 1973. godine u Laboratoriju za eksperimentalnu medicinu Sveučilišta u Zagrebu. Od 1975. do 1979. godine radi kao asistent (znanstveno zvanje) u Institutu za kemiju Sveučilišta u Zagrebu, te na Tehnološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Na Prehrambeno-biotehnološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu (PBF) zaposlen je od 1979. godine u Laboratoriju za toksikologiju Zavoda za kemiju i biokemiju, gdje je 2014. godine umirovljen u znanstveno-nastavnom zvanju redovitog profesora u trajnom zvanju. Vršio je dužnost pročelnika Laboratorija za Toksikologiju od 2008. – 2013. g. Kao gostujući znanstvenik boravio je 6 mjeseci tijekom 1980. godine u Department of Medical Nutrition c/o Department of Chemistry, Karolinska Institute, Stockholm, Švedska.

Prof. dr. sc. Branimir Šimić aktivno je sudjelovao na 8 nacionalnih znanstvenih projekata, jednog od kojih je bio voditelj, te na 3 međunarodna projekta. Njegova znanstveno-istraživačka djelatnost vezana je tematski uz znanstvene projekte na kojima je bio angažiran, te uz suradnju sa znanstvenim timovima drugih institucija. Problematike istraživanja obuhvaćaju štetne učinke i rizike od tvari, koje se kao rezultat primjene u poljoprivrednoj proizvodnji mogu naći u okolišu i hranidbenom lancu (organoklorirani i organofosforni insekticidi, s-triazinski herbicidi); njihov utjecaj na hormonsku ravnotežu u neuroendokrinom sustavu sisavaca i ptica i usporedbe biotransformacijskih puteva u različitim vrstama, mehanizmi djelovanja na molekulsko-staničnoj razini – promjene aktivnosti enzimskih sustava, hormon-receptor interakcije; primjena alternativnih metoda u praćenju toksičnosti i pojašnjenju mehanizama djelovanja kontaminanata hrane iz okoliša i industrijskih

kontaminanata (pesticidi, poliklorirani bifenili) – uspostave i validacije test-sustava staničnih linija, mogućnosti evaluacije toksičnosti ksenobiotika; prisustvo kontaminanata poput teških metala (tkiva divljači iz lovnih područja RH, pčelinji proizvodi) i ostataka veterinarskih lijekova (meso i mesni proizvodi, riba, jaja) u hranidbenom lancu; djelovanja stresa na biokemijske parametre, hormonski i imunوسي sustav životinja u intenzivnom stočarskom uzgoju i primjena imunomodulatora u svrhu očuvanja fiziološkog integriteta i poboljšanja proizvodnje. Objavio je 49 znanstvenih radova (od toga 25 iz skupine a1).

Prof. dr. sc. Branimir Šimić aktivno je sudjelovao kao član znanstvenog i/ili programskog odbora u organizaciji 3 znanstvena skupa iz područja biotehnologije (*1<sup>st</sup>, 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> Croatian Scientific Conference about Biotechnology with international participation*), te u organizaciji 2 znanstvena skupa iz područja toksikologije (*2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> Croatian Congress of Toxicology with international participation*). Bio je član uređivačkog odbora 3 zbornika radova sa znanstvenih skupova iz područja biotehničkih znanosti, koji su stekli status serijske publikacije „*Current Studies of Biotechnology*“ i indeksirani su u ISI Proceedings, Biotechnology Citation Index i Chemical Abstracts. God. 2004 bio je član organizacijskog odbora i poučavatelj na međunarodnom obrazovnom tečaju *EUROTOX Basic Toxicology Course* - u organizaciji EUROTOX-a i Hrvatskog toksikološkog društva.

Od 1988. godine sudjelovao je u nastavi na dodiplomskim studijima PBF-a (stari program). Tijekom priprema studijskih programa prema Bolonjskoj deklaraciji, na PBF-u prof. dr. sc. Branimir Šimić je aktivno sudjelovao u kreiranju modula „Osnove toksikologije“ (studij: Nutricionizam - N) na preddiplomskom studiju. Za potrebe diplomskih studija (N, Prehrambeno inženjerstvo - PI, Upravljanje sigurnošću hrane - USH) sudjelovao je u pripremi programa za modul „Toksikologija hrane“; „Toksikološki aspekti pripreme hrane“ za studij N; „Toksikologija“ za studij Molekularna biotehnologija (MB) i Metodika znanstvenog rada i zaštita intelektualnog vlasništva (studiji: MB, Bioproceno inženjerstvo - BPI, N, PI, USH). Bio je nositelj ili suradnik u izvođenju programa navedenih kolegija. Koautor je jednog sveučilišnog udžbenika i jedne skripte PBF-a s internom recenzijom.

Za poslijediplomski doktorski studij Nutricionizam dr. sc. Branimir Šimić je izradio program za modul „Antinutrijenti i toksikanti u namirnicama biljnog porijekla“. Također je na istom studiju od 2008. godine do umirovljenja nositelj modula „Toksikologija hrane“, „Toksikološki aspekti u pripremi hrane“ i „Metodika znanstvenog rada“, te nositelj modula „Toksikološki aspekti u prehrambenoj industriji“ i „Metodika znanstvenog rada“ na studiju

Prehrambena tehnologija, a na studiju Biotehnologija i Bioproceno inženjerstvo bio je suradnik na modulu „Ekotoksikologija“. Na poslijediplomskom specijalističkom studiju Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta *Kvaliteta i sigurnost hrane* bio je nositelj modula „Toksikološki aspekti u pripremi hrane“, te suradnik na modulu „Sigurnost hrane“. Od 2010. godine je bio na poslijediplomskom doktorskom studiju *Farmaceutsko-biokemijske znanosti* i poslijediplomskom specijalističkom studiju *Toksikologija* Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu nositelj kolegija „Biokemijski mehanizmi toksičnosti“.

Prof. dr. sc. Branimir Šimić mentor je 8 završnih i 7 diplomskih radova, mentor je jednog dokorskog i jednog specijalističkog rada.

Prof. dr.sc. Branimir Šimić je član Hrvatskog toksikološkog društva, te član Hrvatskog društva za biotehnologiju.

*Informacije o mentoru:*

Dr. sc. Nina Bilandžić, znanstveni savjetnik, Hrvatski veterinarski institut

## **ŽIVOTOPIS**

Dr. sc. Nina Bilandžić rođena je 06. lipnja 1969. godine u Ivanić Gradu. Diplomirala je 1993., magistrirala 1999., a doktorirala 2004. godine na Prehrambeno-biotehnološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Od 1995. godine zaposlena je na Hrvatskom veterinarskom institutu: od 1995. do 2001. na Odjelu za kemiju kao asistent, od 2001. do 2005. u Laboratoriju za praćenje i dijagnostiku animalnih spongiformnih encefalopatija kao asistent, te od 2006. kao voditeljica Laboratorija za određivanje rezidua, kao znanstveni suradnik i viši znanstveni suradnik, a od 2015. u zvanju znanstveni savjetnik.

U razdoblju od 1995. do 2013. bila je aktivno uključena u realizaciji 4 nacionalna znanstveno-istraživačka projekta Ministarstva znanosti Republike Hrvatske: 1991.-1995. Utjecaj pesticida i mikotoksina u svinjogojstvu (3-03-355), 1996.-2001. Učinak hranjenja i liječenje životinja na zdravlje ljudi (04-48-01-02), 2002.-2005. Proučavanje bolesti s neurološkim poremećajima preživača (0048008), 2007.-2013. Efekti i sudbina veterinarskih lijekova i cjepiva u organizmu (048-0481186-1184). Bila je voditelj dva projekta Hrvatske agencije za hranu iz Osijeka: 2010.-2011. Učinak antibiotika u uzorcima svježeg mlijeka na zdravlje potrošača, 2012.-2013. Izloženost populacije Republike Hrvatske esencijalnim i ne-esencijalnim elementima primjenom studije ukupne prehrane. U 2014. i 2015. aktivno je uključena u projekt Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu (Utvrđivanje rezidua akaricida i patvorina u pčelinjem vosku) odnosno projekt Ministarstva poljoprivrede, Vijeća za istraživanja u poljoprivredi (VIP) (Primjena nutraceutika u pčelarstvu).

Znanstveno-istraživački rad dr. sc. Nina Bilandžić obuhvaća područje toksikologije biološki aktivnih tvari, istraživanja utjecaja stresa na fiziološke procese u organizmu životinja i utjecaj imunomodulativnog učinka antihelmintika na imunski odgovor životinja. Zatim, uključuje farmakokinetička istraživanja eliminacije pojedinih lijekova u hrani primjenom novorazvijenih sofisticiranih analitičkih metoda. Istraživanja su također bila usmjerena na određivanje sadržaja esencijalnih elemenata u svim vrstama hrane životinjskog podrijetla te njegove procjene u odnosu na referentne prehrambene i toksikološke vrijednosti. Najveći broj



istraživanja odnosi se na određivanje teških metala u svrhu utvrđivanja kontaminacije životinja odnosno toksikološkog utjecaja na hranu. Do sada je objavila 116 znanstvenih radova (od toga 57 iz skupine a1). Znanstveni radovi su joj prema ISI Web of Science citirani 278 puta (h-index 10).

U siječnju i veljači 2000. sudjelovala je na edukaciji „Analiza rezidua veterinarskih lijekova, pesticida i kontaminanata u biološkom materijalu, u Referalnom laboratoriju Europske unije u Bilthovenu u Nizozemskoj. U veljači i travnju 2001. sudjelovala je na edukacijama za Dijagnostiku goveđe spongiformne encefalopatije primjenom Prionics–Check BSE metodom u Prionics u Zürichu u Švicarskoj, odnosno na Veterinarskom fakultetu u Ljubljani u Sloveniji. U travnju 2006. sudjelovala je na Seminaru o izradi plana nacionalnog monitoringa rezidua u hrani životinjskog podrijetla u organizaciji TAIEX-a, Europske Komisije, u Briselu u Belgiji. U svibnju 2006. sudjelovala je na edukaciji „Analitičke metode (validacija i primjena) i implementacija sustava kvalitete“ u sklopu projekta «Capacity building in the area of agriculture, live animals and food products» u laboratoriju Istituto Zooprofilattico dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale" u Teramu u Italiji. U ožujku 2007. sudjelovala je na edukaciji za „Principles and applications of metrology in chemistry, Training in Metrology in Chemistry, TrainMiC“ u organizaciji Institute for Reference Materials and Measurements iz Geela u Belgiji. Sudjelovala je 2006., 2011. i 2013. godine na radionicama Referentnog laboratorija Europske unije (EURL-ANSES) za rezidue antimikrobnih tvari, zabranjenih tvari i boja u hrani životinjskog podrijetla u Fougèresu u Francuskoj.

Članica je uređivačkog odbora časopisa „Veterinarska stanica“. Pod njenim mentorstvom u tijeku je izrada 5 disertacija.

Stručna je mentorica u ekstramuralnoj nastavi završnog semestra Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Članica je Hrvatskog toksikološkog društva i Hrvatskog biokemijskog društva.



"Tko nije naučio gledati nebo u potoku, ne zna što su ribe na drveću..."

*I. Andrić*

*Od srca svojoj obitelji*

# SADRŽAJ

## I. UVOD

1.1.	DUPINI – sisavci iz reda kitova .....	1
1.1.1.	Dobri dupin ( <i>Tursiops truncatus</i> ).....	3
1.1.2.	Plavobijeli dupin ( <i>Stenella coeruleoalba</i> ).....	4
1.1.3.	Glavati dupin ( <i>Grampus griseus</i> ).....	5
1.2.	Toksični metali kao bioindikatori zagađenja u morskom okolišu.....	5
1.2.1.	Kadmij.....	9
1.2.1.1.	Toksikokinetika i toksikodinamika kadmija.....	11
1.2.1.2.	Toksičnost kadmija u čovjeka.....	13
1.2.1.3.	Kadmij u morskim sisavcima.....	15
1.2.1.4.	Utjecaj selena na toksikokinetiku i toksikodinamiku kadmija .....	17
1.2.2.	Olovo.....	18
1.2.2.1.	Toksikokinetika i toksikodinamika olova.....	19
1.2.2.2.	Toksičnost olova u čovjeka.....	21
1.2.2.3.	Olovo u morskim sisavcima.....	22
1.2.3.	Arsen .....	23
1.2.3.1.	Toksikokinetika i toksikodinamika arsena.....	24
1.2.3.2.	Toksičnost arsena u čovjeka .....	26
1.2.3.3.	Arsen u morskim sisavcima .....	28
1.2.4.	Živa.....	30
1.2.4.1.	Toksikokinetika i toksikodinamika žive .....	31
1.2.4.2.	Toksičnost žive u čovjeka .....	32
1.2.4.3.	Živa u morskim sisavcima .....	36
1.2.4.4.	Utjecaj selena na toksikokinetiku i toksikodinamiku žive.....	38
1.3.	Koncentracije toksičnih metala u dupina na Mediteranu .....	41

1.4.	Koncentracije toksičnih metala u dupina u svijetu .....	44
2.	MATERIJALI I METODE	
2.1.	MATERIJALI .....	47
2.1.1.	Uzorci .....	47
2.1.2.	Kemikalije .....	54
2.1.2.1.	Certificirani referentni materijali (CRM).....	54
2.1.2.2.	Ostale kemikalije .....	54
2.1.3.	Laboratorijska oprema.....	55
2.1.3.1.	Laboratorijski uređaji.....	55
2.1.3.2.	Laboratorijski pribor .....	55
2.1.4.	Priprema otopina .....	57
2.1.4.1.	Standardne otopine i otopine za AAS .....	57
2.1.4.2.	Standardne otopine i otopine za ICP OES .....	59
2.1.4.3.	Standardne otopine i otopine za FIMS (sistem za analizu žive injektiranjem) .....	59
2.2.	METODE.....	60
2.2.1.	Priprema uzoraka.....	60
2.2.1.1.	Određivanje metala atomskom apsorpcijskom spektrometrijom (AAS) ....	63
2.2.1.2.	Određivanje kadmija atomskom apsorpcijskom spektrometrijom .....	64
2.2.1.3.	Određivanje olova atomskom apsorpcijskom spektrometrijom.....	66
2.2.1.4.	Određivanje arsena atomskom apsorpcijskom spektrometrijom .....	68
2.2.1.5.	Određivanje selena atomskom apsorpcijskom spektrometrijom .....	70
2.2.2.	Određivanje selena induktivno spregnutom plazmom - optičkom emisijskom spektrometrijom (ICP- OES) .....	72
2.2.3.	Određivanje žive FIMS sustav (sistem za analizu žive injektiranjem) .....	74
2.2.4.	Kontrola kvalitete rezultata analize .....	76
2.2.5.	Statistička obrada podataka .....	78
3.	REZULTATI	

3.1.	Biološke karakteristike dobrih dupina ( <i>Tursiops truncatus</i> ), plavobijelih dupina ( <i>Stenella coeruleoalba</i> ) i glavatih dupina ( <i>Grampus griseus</i> ).....	79
3.2.	Koncentracije kadmija u tkivima dobrih dupina ( <i>Tursiops truncatus</i> ), plavobijelih dupina ( <i>Stenella coeruleoalba</i> ) i glavatih dupina ( <i>Grampus griseus</i> ).....	83
3.3.	Koncentracije olova u tkivima dobrih dupina ( <i>Tursiops truncatus</i> ), plavobijelih dupina ( <i>Stenella coeruleoalba</i> ) i glavatih dupina ( <i>Grampus griseus</i> ).....	87
3.4.	Koncentracije arsena u tkivima dobrih dupina ( <i>Tursiops truncatus</i> ), plavobijelih dupina ( <i>Stenella coeruleoalba</i> ) i glavatih dupina ( <i>Grampus griseus</i> ).....	91
3.5.	Koncentracije žive u tkivima dobrih dupina ( <i>Tursiops truncatus</i> ), plavobijelih dupina ( <i>Stenella coeruleoalba</i> ) i glavatih dupina ( <i>Grampus griseus</i> ).....	95
3.6.	Koncentracije selena u tkivima dobrih dupina ( <i>Tursiops truncatus</i> ), plavobijelih dupina ( <i>Stenella coeruleoalba</i> ) i glavatih dupina ( <i>Grampus griseus</i> ).....	99
3.7.	Hg:Se molarni odnos u tkivima dobrih dupina ( <i>Tursiops truncatus</i> ), plavobijelih dupina ( <i>Stenella coeruleoalba</i> ) i glavatih dupina ( <i>Grampus griseus</i> ).....	103
3.8.	Utjecaj bioloških faktora na koncentraciju metala u tkivima .....	104
3.9.	Utjecaj geografskog faktora na koncentraciju metala u tkivima dobrih dupina ( <i>Tursiops truncatus</i> ), plavobijelih dupina ( <i>Stenella coeruleoalba</i> ) i glavatih dupina ( <i>Grampus griseus</i> ) .....	109
3.10.	Povezanost koncentracija metala s razdobljem promatranja .....	110
3.11.	Korelacija sadržaja metala između različitih tkiva dobrih dupina ( <i>Tursiops truncatus</i> ).....	119
4.	RASPRAVA .....	124
4.1.	Koncentracije toksičnih metala u tkivima ispitivanih vrsta dupina.....	126
4.2.	Hg-Se detoksikacijski mehanizam u dupinima .....	1477
4.3.	Utjecaj ispitivanih faktora na koncentracije metala u tkivima dupina .....	151
5.	ZAKLJUČCI.....	12663
6.	LITERATURA .....	1616
7.	PRILOZI .....	203
8.	ŽIVOTOPIS I POPIS RADOVA.....	208

## ***1. UVOD***



## 1.1. DUPINI – sisavci iz reda kitova

Životinje iz reda kitova (Cetacea) su sisavci koji cijeli svoj život provode u vodi. Oni su raznolika taksonomska skupina koju karakterizira najviši stupanj prilagodbe životu u vodi. Prema Odboru za taksonomiju Udruženja za znanost o morskim sisavcima (Committee on Taxonomy, 2011) skupina Cetacea danas broji 87 vrsta. Nedavno je izumrla vrsta iz rijeke Yangtze, dupin *Lipotes vexillifer*. Kitovi se dijele na usane (*Mysticeti*) s 14 vrsta unutar 4 porodice i zubane (*Odontoceti*) sa 73 vrste unutar 10 porodica.

Tijelo dupina je vretenasto, bez stražnjih udova, s reduciranim prednjim udovima i snažnim, horizontalno postavljenim repom za pokretanje. Nosnice su pretvorene u nosne otvore smještene na vrhu glave za olakšano disanje tijekom plivanja. Kitovi zubani imaju jedan, a kitovi usani dva nosna otvora na vrhu glave. Različite vrste kitova pokazuju različitu socijalnu organizaciju i ponašanje. Tako neke vrste žive samotno, neke u manjim skupinama, dok druge žive u velikim skupinama (Reeves i sur., 2002).

Kitovi (Cetacea) se ubrajaju u ugrožene životinje, a pojedine vrste i među najugroženije životinjske vrste uopće. Ujedno ovi kitovi se ubrajaju u sisavce najprilagođenije životu u moru. Dugi niz godina utvrđen je značajan pad brojnosti jedinki u populacijama gotovo svih vrsta ovoga reda te promjena zoogeografske rasprostranjenosti pojedinih vrsta. Primjer toga je i Jadransko more u kome je danas stalno prisutna samo jedna vrsta kitova, dobri dupin (*Tursiops truncatus*) čija se brojnost procjenjuje na oko 220 jedinki (Gomerčić i sur., 1998). U Jadranskom moru povremeno borave i neke druge vrste kitova koje redovito nastanjuju Sredozemno more, a to su najčešće plavobijeli dupin (*Stenella coeruleoalba*) i glavati dupin (*Grampus griseus*), dok se obični dupin (*Delphinus delphis*) i krupnozubi dupin (*Ziphius cavirostris*), te veliki sjeverni kit (*Balaenoptera physalus*) ovdje pojavljuju znatno rjeđe (Gomerčić i sur., 2004). Uz navedene vrste, Sredozemno more stalno nastanjuju bijelogrli dupin (*Globicephala melas*), te glavata ulješura (*Physeter catodon*) (Galov, 2007).

Veliki sjeverni kit pripada podredu kitova usana, porodici brazdastih kitova (*Balaenopteridae*). Ostale vrste koje povremeno borave u Jadranskom moru pripadaju podredu kitova zubana, i to porodici brazdastih dupina (*Ziphiidae*) pripada krupnozubi dupin,



dok ostale tri vrste dupina – plavobijeli dupin, glavati dupin i obični dupin pripadaju porodici šiljatozubih dupina (*Delphinidae*) (Galov, 2007). Sistematika vrsta kitova prikazana je u Tablici 1.

**Tablica 1.** Sistematika vrsta kitova

Red	<i>Cetacea</i> kitovi		
Podred	<i>Mysticeti</i> kitovi usani	<i>Odontoceti</i> kitovi zubani	
Porodica	<i>Balaenoptera</i> brazdasti kitovi	<i>Ziphiidae</i> brazdasti dupini	<i>Delphinidae</i> šiljatozubi dupini
Vrsta	<i>Balaenoptera physalus</i> veliki sjeverni kit	<i>Ziphius cavirostris</i> krupnozubi dupin	<i>Tursiops truncatus</i> dobri dupin  <i>Stenella coeruleoalba</i> plavobijeli dupin  <i>Grampus griseus</i> glavati dupin





U Hrvatskoj su od 1994. sve vrste kitova zaštićene Zakonom o zaštiti prirode (Zakon, 2003), Zakonom o zaštiti životinja (Zakon, 2006a), Pravilnikom o zaštiti pojedinih vrsta sisavaca (Mammalia) (Pravilnik, 1995), Pravilnikom o proglašavanju divljih svojti zaštićenim i strogo zaštićenim (Pravilnik, 2009), a i međunarodnim ugovorima tj. Konvencijom o zaštiti migratornih vrsta divljih životinja (CMS) (Zakon, 2000a), Sporazumom o zaštiti kitova (Cetacea) u Crnom moru, Sredozemnom moru i susjednom Atlantskom području (ACCOBAMS) (Zakon, 2000b) kao i Međunarodnom konvencijom za regulaciju kitolova i Protokol (IWC) (Zakon, 2006b).

U ovo istraživanje uključene su tri vrste iz reda kitova, a to su dobri dupin, plavobijeli dupin i glavati dupin.

### **1.1.1. Dobri dupin (*Tursiops truncatus*)**

Dobri dupin (*Tursiops truncatus*) vrsta je morskog sisavca iz reda Cetacea. Unutar reda kitova dobri dupin pripada podredu *Odontoceti* – kitovi zubani, porodici *Delphinidae* – šiljastozubi dupini. Rasprostranjen je po cijelome svijetu, od umjereno hladnih do tropskih mora u obje hemisfere, uglavnom u obalnim područjima. Životni vijek mužjaka je oko 40 do 45 godina, a ženke mogu živjeti i preko 50 godina. Biologija ove vrste vrlo je dobro istražena. Mediteranski dupini genetski se razlikuju od onih koji nastanjuju istočne dijelove Sjevernog Atlantskog oceana i škotski akvatorij (Bearzi i sur., 2009). Duljina odraslih jedinki u prosjeku iznosi od 2,5 do 3,5 m i mase od 270 do 350 kg (Notarbartolo Di Sciara i Demma, 1994). Izrazito su socijalni i tipično žive u grupama od oko 15 jedinki, no poznati su i primjeri grupa s više od 1000 jedinki. S obzirom da je to vrsta koja je vrlo prilagodljiva i lako se dresira, to je najčešća vrsta kita koja se drži u zatočeništvu (Jefferson i sur., 1993).

Glavni plijen dobrog dupina iz Jadranskog mora je riba, ali često konzumira i glavonošce poput lignje, lignjuna, muzgavca i sipe (Poldan, 2004). Smatra se da u mnogim regijama postoje barem dva tipa dobrog dupina – obalni i pelagički, koji se razlikuju u



morfologiji, načinu hranjenja i njegovim nametnicima (Baird i sur., 1993). U hrvatskom dijelu Jadranskog mora postoji samo jedan morfološki tip dobrog dupina (Đuras Gomerčić, 2006).

### 1.1.2. Plavobijeli dupin (*Stenella coeruleoalba*)

Plavobijeli dupin (*Stenella coeruleoalba*) je mala pelagična vrsta kita koju karakterizira tanak i izduženi kljun što je glavna značajka cijelog roda. Prosječna dužina mu je 1,8-2,5 m, a masa između 90 i 150 kg. Plavobijeli dupini su brzi plivači, rado izvode akrobacije u zraku i vrlo su socijalni. Žive u skupinama čija veličina varira u različitim regijama, a iznosi od 10-30 pa do nekoliko stotina jedinki. Plavobijeli dupin kozmopolitska je vrsta, nastanjuje tropska i umjerena mora cijelog svijeta, a najčešća je vrsta dupina u Sredozemnom moru (Jefferson i sur., 1993; Archer i Perrin, 1999; Archer 2002). Od svih vrsta kitova upravo su na plavobijelim dupinima najintenzivnije istražena zagađivala i nametnici. Tako se uginuća tisuće plavobijelih dupina populacije zapadnog Sredozemnog mora od 1990. do 1992. godine smatraju povezanim s visokim koncentracijama organskih klorida koji uzrokuju supresiju imunskog sustava smanjujući otpornost na infekcije (Archer, 2002). Unatoč velikom broju postoji razlog za zabrinutost oko položaja plavobijelih dupina u Sredozemlju jer ih veliki broj stradava slučajno u pelagičkim kočarskim mrežama, a pretjerani izlov ribe i uništavanje staništa uzrokuju smanjenje broja ribe i glavonožaca. Stres zbog nedostatka hrane i visoka koncentracija onečišćivača u tkivima ovih dupina čine ih posebno podložnim bolestima (Reeves i sur., 2002).

Iako je najčešća vrsta dupina u Sredozemlju, ova vrsta nije stalni stanovnik Jadranskog mora, ali u njega zalazi češće od ostalih vrsta kitova (Gomerčić i sur., 2004). U talijanskom dijelu Jadranskog mora zabilježeno je 148 nalaza mrtvih ili nasukanih plavobijelih dupina u južnom dijelu Jadrana, 21 u srednjem, te sedam u sjevernom dijelu Jadrana u razdoblju od 1986. do 1996. godine (Podestà i Bortolotto, 2001). U hrvatskom dijelu Jadranskog mora po prvi puta je nađen plavobijeli dupin tek 1991. godine na Korčuli (Gomerčić i sur., 1994).



### 1.1.3. Glavati dupin (*Grampus griseus*)

Glavati dupin (*Grampus griseus*) je peti najveći član porodice *Delphinidae*. Naseljava područja od tropskih do umjerenih regija oceana obje hemisfere. Odrasle jedinke oba spola dosežu dužinu do 4 m i masu od 400-500 kg (Jefferson i sur., 1993). Jedinke ove vrste vole život u skupinama i tipično putuju u grupama od 10 do 50 jedinki, a dosad najveća zabilježena skupina brojila je preko 4000 jedinki. Često se može vidjeti zajedno s drugim vrstama kitova, a zabilježeno je i postojanje hibrida između glavatih i dobrih dupina u zatočeništvu, ali i u divljini. Plijan im se sastoji od glavonožaca, a zabilježeno je da u nekim područjima skidaju ribu s parangala. Brojnost sredozemne populacije nije poznata, no rasprostranjena je po cijelom Sredozemnom moru, a brojnija je u njegovom zapadnom dijelu (Notarbartolo di Sciara i Demma, 1994). U Jadranskom moru su zabilježena povremena viđenja glavatih dupina (Gomerčić i sur., 1998), a šest primjeraka je nađeno mrtvo do 2002. godine (Gomerčić i sur., 2002).

## 1.2. Toksični metali kao bioindikatori zagađenja u morskom okolišu

Redovita konzumacija hrane i vode za piće predstavlja najznačajniji prehrambeni izvor elemenata za sve žive organizme. Prirodni procesi, poput klimatskih reakcija, vulkanske aktivnosti, hidrotermalne aktivnosti u dubinama mora i isparavanje Zemljinog plašta (u slučaju elementarne žive) uvijek mobiliziraju toksične metale iz Zemljine kore. Stoga ne iznenađuje činjenica da su mnogi organizmi, uključujući sisavce, razvili detoksikacijske mehanizme protiv štetnih učinaka unesenih toksičnih metala. Bakterije, na primjer, detoksiciraju absorbirani  $\text{CH}_3\text{Hg}^+$  cijepanjem veze C-Hg nakon čega slijedi redukcija nastalog  $\text{Hg}^{2+}$  do elementarne žive  $\text{Hg}^0$ . Elementarna živa može difundirati kroz staničnu membranu čime se uklanja iz organizma. Isto tako, sisavci su razvili metal vezujuće proteine, kao što je metalotionein, koji štite organizam sisavaca od toksičnosti kadmija (Gailer, 2007).



Industrijska revolucija predstavlja polaznu točku za nadolazeću antropogenu mobilizaciju toksičnih metala iz zemljine kore (geosfere) u globalni okoliš (hidrosferu, atmosferu i biosferu). Tijekom proteklih 200 godina postupno povećanje antropogenih aktivnosti poput potrošnje fosilnih goriva, metalne industrije, taljenja, primjene umjetnih gnojiva, spaljivanje komunalnog otpada omogućili su pojavu izvora toksičnih metala u globalnom okruženju. Ukupna koncentracija žive u alpskom snijegu (Mont Blanc, Francuska) je porasla pet puta u razdoblju od 1885. do 1965. godine. Kvantitativna procjena svjetske antropogene zagađenosti zraka, vode i tla s toksičnim metalima pokazala je da ljudske aktivnosti znatno narušavaju biogeokemijske cikluse najmanje jedanaest elemenata na globalnoj razini (Gailer, 2007).

Osnovni razlog zabrinutosti obzirom na povećane koncentracije toksičnih metala u okolišu je da svakodnevnim unosom relativno malih doza dolazi do dramatičnih zdravstvenih učinaka kod čovjeka. Na primjer, dnevni unos od 200 do 250  $\mu\text{g}$  anorganskog arsena može rezultirati pojavom karcinoma (Marcus i Rispin, 1988). Dakle, izlaganje ljudske populacije povećanim prehranbenim razinama anorganskih i organskih oblika toksičnih metala značajno će povećati rizik od kroničnih bolesti.

Nekoliko incidencija trovanja ljudske populacije nakon Prvog svjetskog rata zbog izloženosti  $\text{CH}_3\text{Hg}^+$ , kadmiju,  $\text{As}^{\text{III}}$  i  $\text{As}^{\text{V}}$  te selenu, otkrili su da na zdravstveno stanje sisavaca mogu značajno utjecati prirodne lokalne geokemijske prilike, antropogene emisije toksičnih metala u okoliš, rudarske aktivnosti i nehotična trovanja (Gailer, 2007).

Metali u morski okoliš dospijevaju iz prirodnih izvora (npr. trošenjem stijena), kao i ljudskih aktivnosti (npr. rudarstvo). Mogu se akumulirati u morskim organizmima raznim putevima, uključujući disanje, adsorpciju i gutanje. Hranidbene navike i brzina resorpcije važni su čimbenici u procjeni koncentracije metala u tim organizmima. U zagađenim morskim sustavima, koncentracije toksičnih metala u sedimentima nekoliko puta su više od onih u živim organizmima. Kako morski sisavci ne dišu pomoću škrge, njihov unos metala izravno iz vode može se zanemariti. Tri glavna puta unosa metala su preko posteljice prije rođenja, mlijekom tijekom razdoblja sisanja te unosom hrane. Dakle, nakon perioda laktacije kod



morskih sisavaca njihov unos metala je uglavnom putem hrane, a takav unos može dovesti do nakupljanja elemenata u tkivima (Zhou i sur., 2001).

Upotreba biomarkera u vodenim organizmima vrlo je važna radi rješavanja širokog spektra industrijskih, poljoprivrednih, komercijalnih i domaćih štetnih tvari koja dospijevaju u okoliš i integriraju se u tkivima vodenih organizama. Biomarkeri mogu poslužiti kao prognostički alat za povećane razine onečišćenja. Definiraju se kao funkcionalna mjera izloženosti kemijskim i fizikalnim zagađivačima (Tosti i Gallo, 2012).

Metode procjene rizika su dizajnirane da pružaju kvantitativnu procjenu vjerojatnosti štetnog učinka koji je nastao kao posljedica onečišćenja okoliša uslijed različitih mješavina kemijskih zagađivača koje mogu djelovati i sinergistički. Ekotoksikološke studije koriste biomarkere u svrhu utvrđivanja rizika od onečišćenja okoliša na ključne komponente u ekosustavu.

Stanište i prehrana morske sisavce čini idealnim indikatorima zdravlja vodenog ekosustava (Van der Schalie i sur., 1999). Povećane koncentracije teških metala mogu pogodovati bolesti životinje. Teški metali su pokazali da mogu uzrokovati promjene imunološkog sustava i mijenjati podložnost bolesti životinje (Martineau i sur, 1994; Lapierre i sur., 1999).

Razumijevanje uloge morskih sisavaca u morskim ekosustavima je važno jer pruža kontekst unutar kojeg se ocjenjuje mogući utjecaj grabežljivaca na plijen i strukturu zajednica, a promjene okoliša na dinamiku morskih sisavaca. Ovo razumijevanje s druge strane može pomoći u poticanju racionalne rasprave o zaštiti i upravljanju morskim sisavcima (Bossart, 2011).

Dugoročne posljedice klimatskih i okolišnih promjena zasigurno utječu na nastanak bolesti u morskim biljkama i životinjama. Koncept morskih organizama kao indikatora („sentinel“ vrsta) pruža pristup procjene stanja vodenih ekosustava. Takvi indikatori su barometri za postojeće ili potencijalno negativne učinke na razini zdravlja životinja. S druge strane, pomoću morskih indikatora omogućuje se bolja karakterizacija i upravljanje čimbenicima koji u konačnici utječu na zdravlje životinja i ljudi, a povezani su s morskim



okolišem. Morski sisavci su važna indikatorska vrsta zbog dugog životnog vijeka, dugoročni su obalni stanovnici, na vrhu su hranidbenog lanca, i imaju jedinstvene masne naslage koje mogu poslužiti kao spremišta za antropogene toksine. Morski sisavci mogu biti izloženi okolišnom stresu, kao npr. kemijskim tvarima, štetnim biotoksinima alga i patogenima. Budući da mnoge vrste morskih sisavaca dijele obalno okruženje s ljudima i konzumiraju istu hranu, oni mogu poslužiti kao učinkoviti indikatori za javnozdravstvene probleme. Ovaj pristup osigurava novi put za bolje razumijevanje povezanost između ekosustava i zdravlja ljudi (Bossart, 2011).

Pojam biomagnifikacije se definira kao prijenos ksenobiotika iz hrane u organizam, što rezultira višom koncentracijom u organizmu od one koja je inicijalno utvrđena u izvoru (Connell, 1989). Također, postoje dva mehanizma unosa kontaminanata, biokoncentracija i bioakumulacija. Biokoncentracija je unos kemikalija od strane organizma izravno iz abiotskog okoliša što rezultira višoj koncentraciji unutar organizma, odnosno, akumuliranje tvari u organizmu. Bioakumulacija je definirana kao unos kemikalije od strane organizam iz abiotskog i/ili biotskog (hrana) okoliša, odnosno, povećanje koncentracije tvari u organizmima kroz hranidbeni lanac (Rand i sur., 1995).

Analiza tkiva različitih vrsta kitova i dupina koristi se kao sredstvo prilikom procjene onečišćenja morskog okoliša elementima u tragovima (Leonzio i sur., 1992; Caurant i sur., 1994; Hobson i sur., 2004). Dokazano je da je hranidbeni lanac glavni put bioakumulacije selena, arsena, kadmija i žive u vodenim organizmima (Shibata i sur., 1992; Bustamante i sur., 1998; Kubota i sur., 2001).

Selen i arsen spadaju u mikronutrijente kod životinja sudjelujući u aktivnostima enzima (Shibata i sur., 1992). S druge strane, kadmij, olovo i živa su egzogeni, štetni elementi koji se akumuliraju tijekom rasta (Feroci i sur., 2005). Eksperimentalnim istraživanjima uočeno je smanjenje bioraspodjelivosti pojedinih elemenata u tragovima, kao što su arsen, živa i kadmij pomoću selena (Sasakura i Suzuki, 1998; Feroci i sur., 2005).



Jetra vodenih organizama može djelovati kao organ za demetiliranje i/ili odvajanja organskog i anorganskog oblika žive (Wagemann i sur., 2000; Endo i sur., 2002), a selen je uključen u oba navedena mehanizma (Palmisano i sur., 1995; Caurant i sur., 1996).

Osim dugog životnog vijeka kitova koji je odgovoran za bioakumulaciju metala, postoje brojni fiziološki čimbenici, kao npr. prehrana koji pridonose njihovom nakupljanju (Monaci i sur., 1998). Morski sisavci unose kontaminante uglavnom gutanjem. Lignje su glavni izvor kadmija kod kitova jer prirodno sadrže visoke koncentracije ovog metala (Bustamante i sur., 1998). Riba je glavni izvor selena i žive, a rakovi su važan izvor arsena (Kubota i sur., 2001; Monteiro-Neto i sur., 2003). Teški metali mogu uzrokovati promjene imunološkog sustava i povećati incidenciju zaraznih bolesti kod morskih sisavaca (Bernier i sur., 1995; Siebert i sur., 1999; Bennett i sur., 2001). Živa je imunotoksični metal koji inducira supresiju limfocita dobrih dupina. Značajan pad vijabilnosti stanica otkriven je izolacijom periferne krvi dupina u uvjetima *in vitro* kod 10 mg/kg žive, dok kod 1 mg/kg i 5 mg/kg dolazi do početne faze apoptoze. Stanice dupina izložene živi odumiru na način koji je u skladu s induciranjem apoptoze, kao što je opisano u limfocitima kod ljudi (Shenker i sur., 2000). Kadmij također može dovesti do imunotoksičnih promjena leukocita dupina induciranjem apoptoze limfocita i utječući na limfocitnu funkciju i fagocitozu kao živa, ali na višim koncentracijama. Olovo može doprinjeti malim promjenama u imunološkom sustavu dobrih dupina djelovanjem na limfocitnu aktivnost (Cámara Pellissó i sur., 2008).

### 1.2.1. Kadmij

Kadmij (Cd) je teški metal koji predstavlja ozbiljan rizik za ljudsko zdravlje. Klasificiran je 1993. kao kancerogen prve skupine koji negativno utječe na čovjeka i životinje. Ubraja se u zagađivače okoliša i nalazi se na osmom mjestu među dvadeset najopasnijih tvari (ATSDR, 2012). Ima dugačak biološki poluvijek (20 god.), a ciljni organi su bubreg i jetra. Mehanizmi koji dovode do kancerogeneze kadmija su prije svega oni koji



uzrokuju oksidativni stres, inhibiciju mehanizama popravka DNK te povećanje ili smanjenje tendencije prema apoptozi (Sarkar i sur., 2013).

Kadmij je metal bez poznatih korisnih svojstava za život. Emisije kadmija nastaju iz dva glavna izvora: prirodnog i antropogenog. Prirodni izvori obuhvaćaju procese poput abrazije stijena, erozije tla, prijenos zagađenih čestica tla vjetrom, šumskim požarima i vulkanskim erupcijama. Iz tla se apsorbira u biljke, a prehrambenim lancem dalje prenosi i akumulira u životinjama i čovjeku. Samo 4-6 % kadmija iz tla se prenese u vodu gdje se u sedimentima akumulira brže nego u bioti (Burger, 2008).

Profesionalna izloženost kadmiju manifestira se udisanjem kadmijevih para, u industriji kadmij-nikal baterija i pigmentnim bojama (ATSDR, 2012). Osim toga, zbog naglog razvoja modernih tehnologija, gdje se kadmij upotrebljava u CdSe/CdTe kombinacijama, primjerice, u proizvodnji fotonaponskih solarnih ćelija i nanomaterijala za biološke aplikacije, možemo, uz dosadašnje razine onečišćenja okoliša kadmijem, u budućnosti očekivati i povišenje tih razina (Lazarus, 2010). Glavni zvor kadmija u općoj populaciji je hrana, posebno žitarice (riža i pšenica), povrće, lignje, školjke i iznutrice, kao i duhanski dim.

Morski sisavci mogu ublažiti toksične učinke kadmija vezanjem za metalotionein-MT (Das i sur., 2000) tako da je većina kadmija u tijelu vezana za taj mali, cisteinom bogati protein (Klaassen i sur., 1999; Nordberg, 2004). MT vezan za kadmij je prvi put otkriven 1957. u bubregu konja (Margoshes i Vallee, 1957). Kasnije je pronađen u jetri i bubregu različitih morskih sisavaca poput sivog tuljana (*Halichoerus grypus*) i sjevernih tuljana krznaša (*Arctocephalus gazella*) (Olafson i Thompson, 1974), kalifornijskih morskih lavova (*Zalophus californianus*) (Ridlington i sur., 1981), plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*) (Kwohn i sur., 1986), običnih tuljana (*Phoca vitulina*) (Tohyama i sur., 1986) i glavatih ulješura (*Physeter catodon*) (Holsbeek i sur., 1998).

Jednokratnom izloženosti organizma kadmij se akumulira prvenstveno u jetri. Niskomolekularni protein, MT u jetri formira kompleks s kadmijem (Cd-MT). Otpuštanjem iz jetre u krv Cd-MT kompleks se distribuira u različita tkiva i organe u ljudskom tijelu (Sarkar i sur., 2013). Raspodjela kadmija u tijelu ovisi o kemijskom obliku tog elementa. Povećana





akumulacija  $\text{Cd}^{2+}$  iona u jetri, bubrezima i kostima nastaje nakon izlaganja kadmiju u obliku anorganskih soli (npr.  $\text{CdCl}_2$ ), a ne kadmiju u kompleksu s MT (Cd-MT).  $\text{CdCl}_2$  se akumulira uglavnom u jetri, a Cd-MT u bubregu. Pretpostavlja se da se oko 50 % kadmija u tijelu pohranjuje u jetri i bubrezima (Siddiqui, 2010). Kadmij se također može akumulirati u plućima udisanjem kontaminiranog zraka. Iako je plućni epitel učinkovita barijera za toksične molekule i teške metale, kadmij može proći kroz alveolarne stanice i ući u krv (Bressler, 2004). Apsorpcija kadmija iz probavnog trakta je pod snažnim utjecajem sadržaja proteina, cinkovih i bakrenih spojeva, kalcija i željeza u prehrani. Njihova niska koncentracija u prehrani povećava apsorpciju kadmija iz probavnog trakta i njegovu akumulaciju u tijelu. Povećanje količine cinka u prehrani smanjuje intenzitet apsorpcije kadmija iz probavnog trakta. Kadmij se također može apsorbirati iz probavnog trakta zajedno s tiolnim skupinama cistein-SH i glutationa (GSH) u obliku Cd-cistein, Cd-GSH. Apsorbirani kadmij se prenosi u jetru (Sarkar i sur., 2013).

#### **1.2.1.1. Toksikokinetika i toksikodinamika kadmija**

Apsorpcija iz probavnog trakta je glavni put izloženosti kadmija kod ljudi. U laboratorijskim ispitivanjima provedenim na životinjama, količina kadmija apsorbiranog iz gastrointestinalnog trakta je niska, ali se povećava s povećanjem doze. Sadržaj MT u crijevima se povećava 25 puta uz prisutnost cinka, a više od 90 % kadmija u citosolu crijevnih stanica je vezana na MT. Međutim, indukcija MT-a u crijevima uz prisutnost cinka ne utječe na povećanje crijevne apsorpcije kadmija (Goon i Klaassen, 1989).

Iako MT u početnoj raspodjeli kadmija ima ograničenu ulogu u pojedinim tkivima (Liu i sur., 2001), njegovo zadržavanje u tkivu ovisi o MT-u. Kadmij se uglavnom nakuplja u bubrezima i jetri gdje su prisutne i visoke razine MT-a. Indukcija jetrenog MT-a gotovo poništava izlučivanje kadmija putem žuči (Klaassen, 1978). Koncentracija kadmija u bubrezima je proporcionalna bubrežnim razinama MT-a (Jarup sur., 1998). Dostupnost



kadmija u mozgu ovisi o dobi životinje (Wong i Klaassen, 1982). Mozak novorođene životinje je propustan za kadmij, međutim, njegova se propusnost smanjuje s godinama uslijed sazrijevanja krvno-moždane barijere (Choudhuri i sur., 1996). Ipak, MT ima važnu ulogu u zadržavanju kadmija u tkivima, te je odgovoran za dugi biološki poluraspad kadmija u tijelu (Klaassen i sur., 2009).

Kadmij je biološki nerazgradiv i redoks inertan u odnosu na druge prijelazne metale kao što su željezo i bakar. Malo je poznato o biotransformacijama kadmija osim njegovog vezanja sa sulfhidrilnim skupinama u molekulama MT i glutationa. Cd-MT kompleks uglavnom nastaje u jetri, otpušta se u krvi i transportira u bubrege (Klaassen i sur., 1999; Nordberg, 2004). Molekule kao što je albumin, cistein, glutation i proteini koji sadrže sulfhidrilne skupine također mogu formirati kompleks s kadmijem kao i MT. Unos kadmija je posredovan transportnim proteinima kao što su DMT1 (transportni protein 1), proteini kalcijevih kanala i ZIP 8 transporter koji mu omogućuju prijenos do ciljnih tkiva. Promjena ekspresije transportnih proteina može utjecati na stanični unos i akumulaciju kadmija, odnosno na toksičnost kadmija (Klaassen i sur., 2009.).

Čovjek je uglavnom izložen kadmiju udisanjem i gutanjem. Apsorpcija kadmija kožom je relativno mala, iako se male količine mogu apsorbirati percutano tijekom dužeg perioda izlaganja.  $\text{CdCl}_2$  je dobro topivi u vodi i osnovni je oblik oralne izloženosti. Nasuprot tome, CdO je glavni oblik kadmija povezan s inhalacijom. Apsorpcija kadmija kroz pluća je relativno učinkovitija od apsorpcije u probavnom traktu (Zalups i Ahmad, 2003). Nakon unosa kroz pluća ili probavni trakt kadmij se transportira u plazmu vezan na albumin. U takvom obliku dopijeva u jetru. Dio kadmija iz jetre se izlučuje u žuč vezan za glutation. Mali dio kadmija vezanog na MT se otpušta u plazmu, filtrira kroz bubrežne glomerule i reapsorbira u proksimalnim bubrežnim kanalčićima adsorptivnom endocitozom. Kadmij zatim ulazi u lizozime tubularnih stanica gdje se otpušta s metalotioneina. Slobodni ioni kadmija mogu uzrokovati oštećenje tkiva ako metalotionein nije prisutan. Kod dugoročne izloženosti kadmiju, nevezani kadmij stimulira proizvodnju metalotioneina u stanicama bubrežnih kanalčića i omogućuje vezanje u kompleks Cd-MT štiteći na taj način stanicu (Nordberg, 2009).



Kadmij uglavnom ulazi u stanice pomoću tri transmembranska transportera: DMT1-divalentni metal transporter,  $\text{Ca}^{2+}$  kanali nadzirani naponom i Zip 8. Unutar stanice, kadmij se (Sarkar i sur., 2013):

(1) veže na metaloproteine vezanjem na mjesto željeza, mangana, cinka, bakra, itd. pri čemu dolazi do pogrešnog smatanja proteina ili eventualno proizvodnje reaktivnih kisikovih radikala (ROS), odnosno reaktivnih spojeva dušika (RNS) što dovodi do oksidativnih oštećenja uslijed čega slijedi smrti stanice;

(2) veže na MT istiskujući  $\text{Zn}^{2+}$  koji se povezuje s MTF1 transkripcijskim faktorom, koji se translocira u jezgru kako bi pokrenuo transkripciju ciljnih gena;

(3) veže se za specifične receptore na membrani endoplazmatskog retikuluma, što dovodi do oslobađanje kalcija, koji će ili aktivirati kaspazu i dovesti do apoptoze, ili će aktivirati određene kinaze i fosfataze čime dolazi do transkripcije gena staničnog ciklusa i stanične proliferacije ili vezanje  $\text{Ca}^{2+}$  pri čemu dolazi do razgradnje proteina;

(4) pokretanje apoptoze mitohondrijskim putem.

#### **1.2.1.2. Toksičnost kadmija u čovjeka**

Kadmij se smatra jednim od najtoksičnih metala. Prvi opisani slučaj povezan sa štetnim djelovanjem toga metala objavljen u izvješću 30-ih godina 20. stoljeća bio je oštećenje pluća kod radnika izloženih povećanim koncentracijam kadmija (Nordberg, 2004). Visoka koncentracija kadmija kod čovjeka može dovesti do teških skeletnih deformacija ("itai-itai" bolest), bubrežnih lezija (uglavnom na proksimalnim tubulima), plućnih oštećenja, disfunkcije kardiovaskularnih i hematopoetskih sustava, te mogu imati kancerogene, mutagene i teratogene učinke (Das i sur., 2003).



Kadmij uzrokuje toksičnost u mnogim tkivima. Akutna trovanja kadmijem uzrokuju plućni edem, krvarenje, oštećenja testisa i smrtnost. Dugoročno izlaganje kadmiju dovodi do nefrotoksičnosti, osteotoksičnosti i imunotoksičnosti (ATSDR, 2012). Kadmij je također klasificiran prema IARC kao kancerogen za čovjeka zbog uzrokovanja tumora pluća, i prostate (Waalkes, 2003). Glavni mehanizmi uključeni u kancerogenezu kadmija mogu se podijeliti u četiri skupine: aberantnu ekspresiju gena, inhibiciju popravka oštećenja DNA, inhibiciju apoptoze i indukciju oksidativnog stresa (Sakar i sur., 2013). Jetra je glavni organ akutne toksičnosti kadmija, ali i kronične toksičnosti nakon dugoročne izloženosti  $\text{CdCl}_2$  (Klaassen i sur., 2009). Dugotrajna izloženost ljudi kadmiju rezultira njegovom akumulacijom u tijelu i dovodi do bolesti koje prvenstveno utječu na pluća i bubrege (IARC, 1993). Lezije bubrega nakon izloženosti kadmiju i živi zabilježene su kod ljudi i životinja. Podaci kod ljudi i laboratorijskih sisavaca pokazuju da koncentracija kadmija u korteksu bubrega od 200 do 220  $\mu\text{g/g}$  mokre težine može izazvati tubulopatiju (oštećenje proksimalnih kanalića) uključujući proteinuriju (Friberg i sur., 1986; WHO, 1992). Elinder i Järup (1996) su utvrdili da je koncentracija od 50  $\mu\text{g/g}$  mokre težine u korteksu bubrega dovoljna da izazove bubrežnu disfunkciju (proteiniurija) u starijih osoba i u populacijama koje su kronično izložene kadmiju iz okoliša. Kadmij dospjeva u bubrege u obliku kadmij-metalotioneina (Cd-MT). Cd-MT se filtrira u glomerulima, a nakon toga resorbira u proksimalne tubule. Količina kadmija u stanicama tubula povećava se tijekom životnog vijeka. Povećanje kadmija u bubrezima rezultira većim izlučivanjem kalcija, što dovodi do većeg rizika od bubrežnih kamenaca (Godt, 2006). Tubularna oštećenja uz gubitak resorptivnog kapaciteta za hranjive tvari, vitamine i minerale te nefropatija i proteinurija povezuju se s dugotrajnim izlaganjem niskim dozama kadmija (Jarup, 2003). Dišni sustav je ozbiljno ugrožen udisanjem kadmijem kontaminiranog zraka. Posljedice su otežano disanje, edem pluća, fibrozne promjene i razvoj karcinoma (Klaassen i sur., 2009).

Veliki dio toksičnog učinka kadmija u organizmu potječe od njegovog negativnog utjecaja na stanične enzimske sustave gdje se veže za mjesta dvovalentnih iona cinka, bakra i kalcija u metaloenzimima ili za tiolne skupine proteina, enzima i nukleinskih kiselina (Stohs i sur., 2001). Kadmij često inhibira antioksidativne enzime, posebno katalazu i superoksid



dismutazu (Wang i sur., 2004), ali i hemoksigenazu 1 i izoformu glutation-S-transferaze (Gong i sur., 1997).

Dugotrajna izloženost visokim dozama kadmija u organizmu može biti povezana s pojavom Itai-Itai, bolesti kod koje pacijent pokazuje široki spektar simptoma kao što su: niski stupanj mineralizacije kostiju, visoka stopa prijeloma, povećani porast osteoporoze, i intenzivna bol u kostima (Godt i sur., 2006).

Najvjerojatniji izvor toksičnosti kadmija kod ljudi je kontaminirana hrana. Osobe koje redovito konzumiraju školjke i ribe te organe kao što su jetra i bubreg mogu biti pojačano izloženi kadmiju (ATSDR, 2012). Prema podacima Svjetske zdravstvene organizacije, dozvoljena granica unosa kadmija za čovjeka je 1  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dan}$ , odnosno 7  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{tjedan}$ .

### **1.2.1.3. Kadmij u morskim sisavcima**

Prijenos kadmija iz kopnenih u vodeni sustav nije vrlo učinkovit: 94 - 96% ostaje u tlu. Kadmij koji dospije u vodu uglavnom se nakuplja u vegetaciji brže nego u bioti (Huckabee i Blaylock, 1973). U vodi 20 % kadmija ostaje u suspendiranim česticama (Peakall i Burger, 2003).

Štetno djelovanje u ribama i divljim životinjama javlja se kada koncentracija kadmija prijeđe 3 mg/kg u slatkovodnoj vodi, 4,5 mg/kg u morskoj vodi, 1000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  u prehrani, ili 100 mg/m<sup>3</sup> u zraku (Burger, 2008). Koncentracije kadmija u bubregu ili jetri kralješnjaka koje prelaze 10  $\mu\text{g}/\text{g}$  (mokre tež.) uzrokuju subletalni učinak, a 200  $\mu\text{g}/\text{g}$  (mokre tež.) u bubregu je opasno po život (Peakall i Burger, 2003). Neke od najviših razina kadmija pronađene su kod morskih sisavaca s Farskih otoka (Caurant i sur., 1994).

Glavonošci mogu biti značajan izvor kadmija, a predatori koji ih konzumiraju pokazuju visoku razinu ovog metala u ciljnim organima. Glavonošce jedu mnoge oceanske



životinje, kao što su morski sisavci, ptice i ribe. Za više od 80 % odontocete vrsta (*Monodontidae*, *Phocaenidae*, *Delphinidae*, *Stenidae*) glavonošci su redovita prehrana (Bustamante i sur., 1998).

Koncentracija kadmija u korteksu bubrega veća je od njegove prosječne koncentracije u bubregu i može se interpretirati množenjem prosječne koncentracije s faktorom 1,25 (Friberg i sur., 1986). Kadmij se koncentrira u stanicama proksimalnih tubula bubrega, a u istraživanjima je dokazano da kod čovjeka izaziva tubularnu disfunkciju kod koncentracije od 50  $\mu\text{g/g}$  mokre težine u korteksu (Elinder i Jarup, 1996). Histopatološka analiza bubrežnog tkiva pokrenuta je budući da su oštećenja bubrega jedan od najvažnijih učinaka kadmija (Gallien i sur., 2001). U pojedinih životinjskih vrsta koncentracije kadmija mogu dosezati visoke razine, čak do 2000  $\mu\text{g/g}$  suhe mase izmjerene kod tuljana (Dietz i sur., 1998). To je znatno viša vrijednost od kritične koncentracije od približno 800  $\mu\text{g/g}$  suhe mase (200  $\mu\text{g/g}$  mokre težine) koja se povezuje s bubrežnim oštećenjima kod sisavaca, uključujući čovjeka (WHO, 1992). Očito je da kod morskih sisavaca unatoč visokim koncentracijama kadmija postoji vrlo učinkovit mehanizam detoksikacije (Dietz i sur., 1998). To potiče pitanja o zdravstvenom stanju takvih kontaminiranih morskih sisavaca. Dietz i sur. (1998) su usporedili niske i visoke koncentracije kadmija u bubrezima tuljana s Grenlanda makroskopskim i mikroskopskim pretragama. Otkrilo se da nema razlike u morfologiji između eksperimentalnih skupina. Ova istraživanja pokazala su da morski sisavci mogu podnijeti značajne koncentracije kadmija bez pokazivanja oštećenja bubrega. Granule koje u svom sastavu sadrže kadmij uočene su u bubrezima dupina iz roda *Lagenorhynchus acutus* na Farskim otocima (Gallien i sur., 2001). Guste mineralne konkrete promjera do 300 nm nalazile su se u bazalnim membranama proksimalnih tubula. Takvi sferokristali su sastavljeni od mineralnih naslaga kalcija, fosfora i kadmija.

Koncentracije kadmija su gotovo uvijek najviše u bubrezima i jetri, a najniže u masnom tkivu i mišićima (Dehn i sur., 2006). Koncentracija od 71,3 mg/kg kadmija mokre težine pronađena je u bubrezima plavobijelih dupina u Brazilu i pripisuje se prehrani baziranoj uglavnom na lignjama (Dorneles i sur., 2007). Zabilježeno je da se povećanjem duljine tijela tuljana povećava koncentracija kadmija u bubrezima i jetri (Harper i sur., 2007).



#### 1.2.1.4 Utjecaj selen na toksikokinetiku i toksikodinamiku kadmija

Selen (Se) je esencijalni element koji igra važnu ulogu u brojnim biološkim procesima kod ljudi i životinja. Antioksidansi kao što je selen, prisutni u tkivima sisavaca, štite od oksidativnog stresa. On kao esencijalni element većinom djeluje kao dio selenoproteina i na taj način neizravno utječe na oksidativni stres izazvan kadmijem (Newairy i sur., 2007). Nedostatak ovog elementa izaziva nekoliko patoloških stanja, kao što su karcinom, koronarne bolesti srca i nekroza jetre (Saito i sur., 2003; Wu i Huang, 2004; Agay i sur., 2005). Selen se u obliku selenita, selenata, selenocisteina i selenometionina najčešće apsorbira u dvanaesniku. Nakon apsorpcije, povišene razine selen su detektirane u proteinima krvne plazme odakle se može distribuirati u tkiva gdje se ugrađuje u novosintetizirane selenoproteine (Ognjanović i sur., 2008).

Selen je inkorporiran u proteine u formi selenocisteina. Proteini koji sadrže selenocistein nazivaju se selenoproteini kao npr. glutation peroksidaza (GSH-Px), tioredoksin reduktaza (TR), selenoprotein P (SeP) (Saito i Takahashi, 2000).

Poznato je također da selen ima zaštitnu ulogu kod toksičnog djelovanja kadmija i drugih teških metala što znači da ima sposobnost mijenjanja raspodjele kadmija u tkivima i poticanje vezanja u Cd-Se kompleks (Ognjanović i sur., 2008).

Unesen u organizam pokusnih životinja u obliku selenita, selen se vrlo brzo selektivno transportira u eritrocite putem anion-transportnog proteina (AEI) gdje se reducira i otpušta u plazmu u obliku selenida. Selenid se u molarnom omjeru 1:1 spaja s ionima kadmija i žive. Nastali kompleks selektivno se veže za kationski centar specifičnog plazmatskog proteina, poznatog kao selenoprotein P pri čemu nastaje tercijarni kompleks (Sasakura i Suzuki, 1998).

Kao najvjerojatniji mehanizam detoksikacije organizma selenom predložen je onaj gdje selen utječe na pojačano vezanje kadmija u kompleks s proteinima velike molekularne mase čime se mijenja njegov metabolički put u organizmu. Pri izlaganju organizma, kadmij dospijeva u krv gdje se transportira plazmom, većinom vezan za albumin i druge proteine, te odlazi u jetru gdje se veže za MT. Sporo se otpušta iz jetre te zbog male molekularne mase



(oko 7 kDa) učinkovito filtrira kroz membranu glomerula i resorbira u stanice proksimalnih bubrežnih kanalića (Nordberg, 2009). Nakon što Cd-MT uđe pinocitozom u stanice, katabolizira se u lizosomima te se u stanici oslobađaju ioni kadmija koji stimuliraju *de novo* sintezu endogenog bubrežnog MT-a koji sadrži kadmij, cink i bakar (Lazarus, 2010).

Kadmij pospješuje oksidaciju polinezasićenih masnih kiselina u membranama i mijenja oksidativni status što može izazvati oksidativno oštećenje raznih tkiva (Wang i sur., 2004). Za razliku od redoks-aktivnih metala kao željezo, bakar, krom i vanadij koji u reakcijama sličnim Fentonovoj stvaraju reaktivne kisikove spojeve (RKS), kadmij, olovo, živa i arsen su redoks-neaktivni metali čiji mehanizam stvaranja oksidativnog stresa nije do kraja razjašnjen. Kadmij ne može izravno stvarati slobodne radikale pa je predložena teorija prema kojoj kadmij može zamijeniti ione željeza i bakra u raznim plazmatskim i membranskim proteinima (npr. feritin), čime u stanici raste količina slobodnih iona željeza i bakra koji preko Fentonovih reakcija sudjeluju u stvaranju oksidativnog stresa (Valko i sur., 2006). Pretpostavlja se i da zbog visokog afiniteta za vezanje na biološke strukture koje sadrže -SH skupine, kadmij iskorištava većinu staničnih rezervi antioksidansa, npr. glutationa (GSH) ili MT čime narušava obrambeni sustav stanica (Ercal i sur., 2001).

Antioksidansi kao što je selen, prisutni u tkivima sisavaca, štite od oksidativnog stresa. Selen kao esencijalni element većinom djeluje kao dio selenoproteina i na taj način neizravno utječe na oksidativni stres izazvan kadmijem (Newairy i sur., 2007).

### 1.2.2. Olovo

Olovo (Pb) je ubikvitaran element. Budući da je za većinu živih bića toksičan pri većoj izloženosti, te ne postoji biološka potreba za njime, glavni problem je određivanje doza koje se mogu prihvatiti kao toksične. Toksičnost se razlikuje ovisno o starosnoj dobi. Najosjetljivija populacija su djeca, posebno mala djeca, dojenčad u neonatalnom periodu i fetus. U





organizam dospjeva uglavnom profesionalnom izloženosti, na prvom mjestu inhalacijom, dok je opća populacija izložena pored inhalacije i ingestijom (Duraković, 2000). Olovo se nalazi u tragovima u gotovo svakoj hrani. Smatra se da odrasla osoba svakodnevno u organizam unese oko 300 µg olova, od čega se apsorbira prosječno oko 10 %. Vodom u naseljima civiliziranih sredina stanovnik unese oko 10 µg/dan olova, od čega odrasle osobe apsorbiraju prosječno oko 10 %, a djeca 30-50 %. Ukupna količina olova koja se tijekom života unese u organizam čovjeka iznosi do 200 mg, dok u profesionalno izložene osobe ta količina može biti 2-2,5 puta viša i iznosi i do 500 mg (Duraković, 2000).

Među teškim metalima olovo pokazuje osobito povišeni antropogeni faktor. Korištenje proizvoda koji sadrže olovo znatno se povećao od industrijske revolucije. Štoviše, hlapljivost olova, povezana s mnogim izvorima emisije, rezultirala je time da olovo nije samo lokalni onečišćivač zraka već zagađivač globalnih razmjera. Više od 90 % olova iz okoliša je rezultat prošlih antropogenih aktivnosti (Caurant i sur., 2006).

#### **1.2.2.1. Toksikokinetika i toksikodinamika olova**

Olovo mijenja funkciju i strukturu bubrega, kosti, središnjeg živčanog sustava, i hematopoetskog sustava, te proizvodi štetne biokemijske, histopatološke, neuropsihološke, fetotoksične, teratogene, i reproduktivne učinke (Eisler, 2009). Anorgansko olovo apsorbirano kod sisavaca u tijelu inicijalno ulazi u krvotok i veže se na crvene krvne stanice. Distribucija olova između krvi i izvanstanične tekućine i drugih mjesta za pohranu je vrlo brza tako da samo polovica netom apsorbiranog olova ostaje u krvi nakon nekoliko minuta. Olovo se skladišti u zubima i kostima. Poluvrijeme raspada ( $T_b \frac{1}{2}$ ) anorganskog olova procjenjuje se na 20 dana u krvi, 28 dana u cijelom tijelu, i 600 do 3000 dana u kostima (Harrison i Laxen, 1981). Razina olova u kostima utječe na razinu olova u plazmi, a postoji zabrinutost da prethodno akumulirano olovo pohranjeno u kostima može predstavljati unutarnji izvor



izloženosti, osobito u razdobljima povećanog mineralnog gubitka kosti povezano s trudnoćom ili dojenjem (Hernandez-Avila i sur., 1998).

Kad olovo inhalacijom ili ingestijom dospije u cirkulaciju, oko 95 % se veže za eritrocite, a oko 5 % se nalazi u plazmi. Na površini eritrocita odlaže se u obliku agregata olovnog fosfata. Vezanjem na tiolske i fosfatne ligande na membranama stanica olovo povećava fragilnost eritrocita i eritroblasta (Duraković, 2000). U plazmi se olovo sastoji od dvije frakcije. Jedna je vezana za proteine plazme, a druga je dijalizibilna i predstavlja metabolički aktivni dio ukupne količine olova u tijelu (Duraković, 2000). Nakuplja se i u kostima, a sastoji se od dva dijela: u medularnom dijelu nalazi se izmjenjiva frakcija olova, a u korteksu kosti nalazi se neizmjenjiva frakcija. Olovo se napose nakuplja u kostima koje brzo rastu, a to su tibija i femur. Iz kostiju može dospjeti u krv i postati značajan izvor unutarnje izloženosti olovu. Prisutnost u kostima kod trudnica i roditelja može predstavljati zabrinjavajući čimbenik tijekom trudnoće i dojenja, a u kasnijoj životnoj dobi može se mobilizirati u osoba s osteoporozom (Silbergeld i sur., 1988).

Akumulacija olova u mekom tkivu najveća je u jetri i bubrezima. Olovo modificira funkciju i strukturu bubrega, kosti, središnjeg živčanog sustava i krvotoka, te proizvodi štetne biokemijske, histološke, neuropsihološke, fetotoksične, teratogene i reproduktivne učinke (Eisler, 2009). Također, olovo uzrokuje poremećaj rada hormona rasta iz hipofize tijekom puberteta (Ronis sur., 1998).

Anorgansko olovo u okolišu može se biološki metilirati u alkilne olovne spojeve (Walsh i Tilson, 1984). Žuč je važna za izlučivanje: olovo unešeno ingestijom prolazi kroz crijeva, krv, kosti i meka tkiva, te putem žuči u tanko crijevo i fekalno se izlučuje (De Michele, 1984).



### 1.2.2.2. Toksičnost olova u čovjeka

Toksični učinci olova povezani su s njegovim interakcijama s enzimima, čija aktivnost je ovisna o nazočnosti slobodnih sulfhidrilnih (SH) skupina s kojima olovo stvara merkaptide. Posljedica je da te skupine organizam više ne može koristiti za stvaranje hemoglobina i citokroma. Niske koncentracije olova također inhibiraju Na, K, ATP-azu, što rezultira povećanom fragilnosti eritrocita i skraćivanjem njihova vijeka trajanja. Uz to, oštećenje proksimalnih tubula bubrega dovodi do deficita eritropoetina (Duraković i sur., 2000).

Olovo ometa sintezu hema inhibicijom tri enzima koji sadrže SH skupine. To su sintetaza delta aminolevulinske kiseline (S-DALK), dehidrataza delta aminolevulinske kiseline (D-DALK) i hem-sintetaza (ferokelataza) (Duraković i sur., 2000). Inhibicijom D-DALK dolazi do zastoja pretvaranja tog enzima u porfobilinogen, što ometa dalju sintezu hema, a D-DALK se nakuplja na mjestu gdje bi trebala biti potrošena. No može se dogoditi i paradoksalna reakcija da se mehanizmom povratne sprege poveća aktivnost sintetaze i veća sinteza DALK. Rezultat toga je povećano izlučivanje DALK urinom, što se koristi u ocjeni biokemijskog učinka olova. Povećana koncentracija D-DALK opaža se u slučajevima kada koncentracija olova u krvi iznosi ili premašuje 25 µg/100 mL. Treća je abnormalnost u sintezi hema, a sastoji se u inhibiciji hem-sintetaze (ferokelataze), koja je prisutna na unutarnjoj strani membrane mitohondrija. Inhibicija hem-sintetaze dovodi do nakupljanja koproporfirina u eritroblastima, a protoporfirina u eritroblastima i eritrocitima. Tu nastaje koproporfinurija koja je karakteristična za djelovanje olova, a vjerojatno je posljedica intramodularnog propadanja eritroblasta. Inhibicija hem-sintetaze tijekom djelovanja olova ima za posljedicu neupotrebljeno željezo, a to se može dokazati analizom eritroblasta koji sadrže grudice ili zrnca željeza (Duraković, 2000).

Klinička slika otrovanja olovom sastoji se od nespecifičnih općih simptoma kao opća slabost i malaksalost, do razdražljivosti i nesanice. U akutnom otrovanju može se pojaviti bubrežna kolika, gastrointestinalni simptomi, neuromišićni i encefalopatički simptomi. Od laboratorijskih znakova otrovanja olovom može se dokazati umjerena mikrocitna i hipokromna anemija kao znak deficita željeza s porastom broja retikulocita i bazofilnim



punktacijama eritrocita. Anemija nastaje zbog skraćenog vijeka eritrocita i ometanja sinteze hema. No, svi ti znakovi nisu specifični za otrovanje olovom. Najraniji i najosjetljiviji znak je inhibicija aktivnosti dehidrataze delta aminoevulinske kiseline (D-DALK) kada se radi o koncentracij olova višoj od 10  $\mu\text{g}/100\text{ mL}$ , čije je povećanje koncentracije u urinu napose od koristi u epidemiološkim studijama. Dok je DALK aktivna na početku sinteze hema, hem-sintetaza je aktivna na njenom kraju, na mjestu kada se u protoporfirin ugrađuje atom željeza. Zbog toga je paradoksalna činjenica da D-DALK ostaje aktivna čak i u cirkulirajućim eritrocitima, a aktivnost hem-sintetaze nestaje čim eritrocit uđe u cirkulaciju, tj. onda kada retikulocit izgubi mitohondrije i postane zreli eritrocit (Duraković i sur., 2000).

### **1.2.2.3. Olovo u morskim sisavcima**

Većina istraživanja usmjerena na prisutnost olova u morskim sisavcima su provedena na mekim tkivima u kojima su koncentracije često vrlo niske (manje od 1  $\mu\text{g}/\text{g}$  mokre težine). Od mekih tkiva, jetra i bubreg pokazivali su najviše koncentracije olova, nakon čega slijedi koža, mozak i mišići. Zbog jakog afiniteta olova za kalcificiranim tkivima, kosti i zubi su pogodniji organi od mekog tkiva za istraživanje bioakumulacije olova. Istraživanja o nakupljanju olova u kostima i zubima kitova su rijetka, međutim, sva pokazuju da je koncentracija olova u tvrdim tkivima veća od one u mekim. Vrijeme poluraspada olova varira od 5 do 20 godina u zubima, a samo nekoliko tjedana ili mjeseci u mekim tkivima (Caurant i sur., 2006).

Reproduktivne aktivnosti kao što su trudnoća, porod i dojenje mogu uzrokovati promjene koncentracija metala u tkivima. Istraživanja su pokazala da se prijenos metala sa ženke na mladunče provodi kroz posteljicu ili dojenjem (Honda i sur., 1987). Kao posljedica toga je smanjenje koncentracije olova u ženki tijekom trudnoće.

Koncentracije olova u tkivima različitih vrsta morskih sisavaca bile su najviše u kostima, s maksimalnom vrijednosti od 62,0 mg/kg suhe težine. U principu, nakupine olova



bile su veće u starijih životinja (Lavery i sur., 2008). Biomagnifikacija olova kroz hranidbeni lanac može biti važan mehanizam akumulacije kod karnivornih morskih sisavaca. Kod kalifornijskih morskih lavova (*Zalophus californianus*), olovo se nakuplja u znatno većim koncentracijama u tvrdim tkivima, kao što su kosti i zubi, u odnosu na meka tkiva, kao što su mast i mišići (Roberts i sur., 1976). Ovi rezultati su usporedivi s opterećenjem olova u čovjeka, što sugerira da je razina izloženosti olova slična za kopnene i morske zajednice (Braham, 1973).

Usporedba koncentracija olova tuljanove dlake pronađene u sedimentima u antarktičkom području i onih pronađenih 1980-ih, pokazuju izraziti porast od 3,9 do 67,0 mg Pb/kg suhe težine, vjerojatno zbog ljudskih aktivnosti. Nakon 1980-te sadržaj olova u tuljanovoj dlaci pao je na 45,0 mg/kg suhe težine, vjerojatno zbog smanjenog korištenja olovnog benzina u južnoj hemisferi (Yin i sur., 2006).

### 1.2.3. Arsen

Arsen (As) je toksični element rasprostranjen u okolišu. Iako može biti esencijalan jer ga neki mikroorganizmi koriste za proizvodnju energije, nema čvrstih podataka o bitnosti za biološki sustav. Dobro se apsorbira iz dišnog i probavnog sustava. Arsen djeluje na mitohondrijske enzime i koči mehanizam staničnog disanja. Unesen ingestijom, arsen se prosječno odstranjuje za 2-15 dana. Otrovati se može perakutno, akutno i kronično, arsenovodikom ili arsenom, koji je jedan od najotrovnijih plinova, kao i jedno od najjačih hemolitičkih sredstava u industriji (Duraković, 2000). Postoji u anorganskom i organskom obliku i u različitim oksidacijskim stanjima (-3, 0, +3 i +5). U slučaju izloženosti okoliša toksikolozi se prvenstveno bave arsenom u trovalentnom i pentavalentnom oksidacijskom stanju (Hughes, 2002). Za razliku od njegove moguće bitnosti u životu, mnoge studije su usmjerene na visoku toksičnost koja je dobro poznata iz različitih slučajeva trovanja tijekom godina (Nriagu, 2002). Toksičnost je posebno visoka kod anorganskog arsena odnosno,



trovalentni anorganski arsen (arsenit) se veže za sulfhidrilne skupine enzima dovodeći do njihove inhibicije, dok peterovalentni anorganski arsen (arsenat), strukturno sličan fosfatu, može poremetiti metaboličke reakcije koje zahtijevaju fosforilaciju (Cox,1995). Simptomi akutnog otrovanja osoba anorganskim arsenom su teški gastrointestinalni poremećaji, zatajenje jetre i bubrega i kardiovaskularni poremećaji. Kronična izloženost uzrokuje pigmentaciju kože, hiperkeratozu, karcinom pluća, mjehura, jetre i bubrega, kao i kože (Kunito i sur., 2008).

Za razliku od negativnih svojstva, arsen je koristan u medicini. Arsen trioksid ( $As_2O_3$ ) privukao je veliku pozornost kao terapijsko sredstvo za liječenje akutne promijelocitne leukemije i drugih vrsta karcinoma, iako točan mehanizam djelovanja nije u potpunosti razjašnjen (Zhu i sur., 2002).

Za odrasle osobe, plodovi mora doprinose 74-96% od ukupnog dnevnog unosa arsena, dok riža i rižine žitarice većinu ostatka. Kod djece, 41% od procijenjenog ukupnog unosa arsena porijeklom je iz plodova mora i 34% od riže i rižinih žitarica (Tao i Bolger, 1998).

#### **1.2.3.1. Toksikokinetika i toksikodinamika arsena**

Toksični anorganski arsen može se biometilirati pomoću bakterija, algi, gljiva, beskralježnjaka i čovjeka čime nastaje monometilarsen (MMA) i dimetilarsen (DMA) koji su manje toksični od anorganskog arsena (Moore i sur., 1997). U čovjeka se metilacija anorganskog arsena uglavnom javlja u jetri, ali je moguća i u drugim organima (Roy i Saha, 2002):





Prvo dolazi do redukcije peterovalentnog anorganskog arsena (V) u trovalentni anorganski arsen (III) posredovanjem glutaciona. Nakon toga se metilna grupa iz S-adenozil metionina prenosi na trovalentni anorganski arsen (III) formirajući MMA. Zatim slijedi redukcija MMA(V) u međuprodukt MMA(III) i u zadnjem koraku metilacija MMA (III) koji se oksidira u DMA (V) (Roy i Saha, 2002).

Trovalentni arsen lako reagira *in vitro* s molekulama koje sadrže tiolnu skupinu kao što su glutation i cistein. Vezanje trovalentnog arsena na kritične tiolne skupine može spriječiti važne biokemijske reakcije koje mogu dovesti do toksičnosti. Međutim, vezanje arsenita na neesencijalna mjesta u proteinima mogu potaknuti detoksikacijski mehanizam. Arsenit inhibira piruvat-dehidrogenazu (PDH). Uloga PDH u citratnom ciklusu je oksidacija piruvata do acetil-CoA koji je osnovni supstrat u ciklusu. Citratni ciklus je glavni ciklus razgradnje kojim stanica osigurava ATP (10 ATP-a po acetilnoj jedinici). Inhibicija PDH u konačnici može dovesti do smanjenja proizvodnje ATP-a. Metilirani trovalentni arsen (MMA III) je potencijalni inhibitor glutation reduktaze i tioredoksin reduktaze. Inhibicija tih enzima može dovesti do citotoksičnosti (Stybło i sur., 2000).

Arsenat može zamijeniti fosfat u mnogim biokemijskim reakcijama zbog slične strukture i svojstva. Na primjer, arsenat reagira *in vitro* s glukozom i glukonatom i formira glukoza-6-arsenat i 6-arsenoglukonat. Ovi spojevi nalikuju glukoza-6-fosfatu i 6-fosfoglukonatu. Glukoza-6-arsenat je supstrat za glukoza-6-fosfat dehidrogenazu i može inhibirati heksokinazu kao i glukoza-6-fosfat. Arsenat također može zamijeniti fosfat u natrijevoj pumpi (Hughes, 2002).

Arsenat razdvaja *in vitro* formiranje adenzin-5'-trifosfata (ATP) mehanizmom arsenolize. Na supstratnoj razini, arsenoliza se može pojaviti tijekom glikolize. U jednom koraku glikolitičkog puta fosfat je povezan enzimatski na D-gliceraldehid-3-fosfat i formira 1,3-difosfo-D-glicerat. Arsenat može zamijeniti fosfat u ovoj reakciji tvoreći anhidrid 1-arseno-3-fosfo-D-glicerat (Dixon, 1997).

ATP nastaje tijekom glikolize u prisutnosti fosfata. Na mitohondrijskoj razini, arsenoliza se može pojaviti tijekom oksidativne fosforilacije. Adenzin-5' -difosfat-arsenat se



sintetizira iz adenzin-5'-Difosfat (ADP) i arsenata u prisutnosti sukcinata. ADP-arsenat hidrolizira lako u odnosu na ADP-fosfata (ATP) koji se stvara tijekom oksidativne fosforilacije. Na mitohondrijskoj razini, arsenoliza smanjuje *in vitro* formiranje ATP-a zamjenom fosfata s arsenatom u enzimskim reakcijama (Hughes, 2002).

Arsenobetain je dominantan oblik arsena u većini morskih životinja i razgradnja arsenobetaina u anorganski arsen nakon otpuštanja u okoliš razlaganjem uginulih životinja, je bitan završetak kruženja arsena u morskim ekosustavima. Postoje dva moguća puta za razgradnju arsenobetaina: pretvorba arsenobetaina u trimetilarsen-oksid (TMAO) ili u dimetilarsenoil acetat (DMAA). U TMAO ili u DMAA se dodatno degradira u anorganski arsen kroz dimetilarsen (DMA) u oba puta. Bakterije koje razgrađuju arsenobetain su sveprisutne u morskom okolišu. Pokazalo se da mikrobne zajednice morskih sedimenata, morskih algi i lebdeće čestice mogu pretvoriti arsenobetain u TMAO, DMA, pa čak i u anorganski arsen. Mikrobiološke zajednice na lebdećim česticama sakupljene na dubini od 3.500 metara također su u mogućnosti razgrađivati arsenobetain. Vrlo je vjerojatno da su aerobni mikroorganizmi prvenstveno uključeni u razgradnju arsenobetaina, jer se arsenobetain brže razgrađuju u aerobnim, a ne anaerobnim uvjetima (Kunito i sur., 2008).

### 1.2.3.2. Toksičnost arsena u čovjeka

Redosljed toksičnosti arsenovih spojeva u čovjeka (Benramdane i sur., 1999) je:



Izloženost arsenu dovodi do nakupljanja arsena u tkivima poput kože, kose i noktiju, što rezultira različitim kliničkim simptomima, npr. hiperpigmentacija i keratoza. Tu je i povećan rizik od karcinoma kože, unutarnjih organa i pluća. Kardiovaskularne bolesti i neuropatija također su povezani s unosom arsena. Arsen također može utjecati na verbalnu komunikaciju i dugoročno pamćenje, može potisnuti hormonske regulacije i hormone koji





posreduju pri transkripciji gena. Reprodukcijska toksičnost se manifestira učestalijim gubicima ploda, prijevremenim porodima i smanjenom težinom novorođenčeta, što se može pojaviti čak i pri niskim (<10 µg/L) razinama izloženosti (Kapaj i sur., 2006). Smrtonosna doza anorganskog arsena je 100-200 mg arsen trioksida u odraslih osoba, iako čovjek može preživjeti i veće doze (Benramdane i sur., 1999). Posljedice kronične toksičnosti navedene su u Tablici 2.

Karakteristike teške akutne toksičnosti arsena kod ljudske populacije uključuju probavne smetnje, povraćanje, proljev, krvave mokraće, anurije, šok, konvulzije, komu i smrt. Dugi niz godina se vjerovalo da je akutna toksičnost anorganskog arsena veća od organskog te da je metilacija anorganskog arsena temeljni detoksikacijski mehanizam. Međutim, utvrđeno je da je derivat monometil arsen (MMA III) toksičniji nego arsenit, npr. kod *Candida humicola in vitro*, te da su ljudske stanice također osjetljivije na citotoksične učinke MMA III u odnosu arsenita (Hughes, 2002).

**Tablica 2.** Posljedice kronične toksičnosti arsena u čovjeka (Hughes, 2002)

<b>ORGAN</b>	<b>DJELOVANJE</b>
Koža	Kožne lezije
Kardiovaskularni sustav	Bolest crnih stopala
Živčani sustav	Periferna neuropatija, encefalopatija
Jetra	Povećanje jetre, ciroza
Hematološki sustav	Depresija koštane srži
Endokrini sustav	Dijabetes
Bubrezi	Proksimalna tubularna degeneracija, papilarne i kortikalne nekroze



### 1.2.3.3. Arsen u morskim sisavcima

Morski okoliš ima značajnu ulogu u globalnom kruženju arsena. Anorganski arsen u morskoj vodi se biotransformira u organske spojeve arsena pomoću morske biote. U principu, morske alge akumuliraju anorganski arsen iz morske vode i pretvaraju ga u arsenošćecere, nakon čega slijedi daljnja transformacije u arsenobetain kroz morski hranidbeni lanac (Kubota i sur., 2002).

Arsen se javlja u morskoj vodi uglavnom u anorganskim oblicima arsenata i arsenita. Morski organizmi, u nemogućnosti izbjegavanja izloženosti potencijalno toksičnim anorganskim vrstama arsena, razvili su mehanizme biotransformacije i detoksikacije. Rezultat je stvaranje više od 25 vrsta spojeva arsena koji se javljaju u morskim sustavima. Anorganski arsen prevladava u morskoj vodi, arsenošćeceri u algama, i arsenobetaini u morskim životinjama. Arsenat u morskoj vodi je dostupan u algama, vjerojatno zbog svoje kemijske sličnosti s esencijalnim fosfatnim anionom, te ga one apsorbiraju u takvom obliku. Međutim, alge općenito ne akumuliraju arsenat nego ga biotransformiraju procesima metilacije i alkilacije u arsenošćecer (Francesconi i Edmonds, 1998).

Morski organizmi sadrže arsen u mnogo većim koncentracijama nego kopneni organizmi, a u nekim morskim vrstama koncentracije arsena premašuju 2000 µg/g suhe tvari (Gibbs i sur., 1983). Mnoge studije su provedene o koncentracijama arsena u morskim organizmima u nižim razinama hranidbenog lanca (npr. alge i školjke). Nasuprot tome, mali broj istraživanja je dostupan za morske sisavce, morske kornjače ili više organizme u morskom hranidbenom lancu. Morski sisavci pokazuju jedinstvene značajke u akumulaciji metala što može biti korisno za karakterizaciju akumulacije arsena u tim životinjama i razumijevanje kruženja arsena u morskom ekosustavu. U principu, količina i oblici arsenovih spojeva u morskim životinjama ovise o njihovom plijenu jer morske životinje su izložene arsenu uglavnom kroz svoju prehranu (Kunito i sur., 2008). Najveće koncentracije arsena zabilježene u morskih sisavaca iznosile su 9,1 do 15,1 mg/kg suhe težine u mišićima, jetri i koži običnih dupina (*Delphinus delphis*) porijeklom iz alžirskog dijela Sredozemnog mora u



razdoblju od 1998.-2002. (Carvalho i sur., 2002). U prehrani kitova važan izvor arsena su rakovi (Kubota i sur., 2001; Kubota i sur., 2002).

Potencijalni rizici povezani s konzumacijom plodova mora koji sadrže arsenobetain, glavni spoj arsena u ukupnoj koncentraciji arsena, izgledaju beznačajno. Kemijski gledano, arsenobetain ne djeluje mutageno u bakterijskom *Salmonella typhimurim* testu (Ames test), nema učinaka na metaboličke inhibicije stanica jajnika kineskog hrčka u koncentraciji od 10 000 mg/L, i ne pokazuju sinergizam ili antagonizam djelovanja s drugim kontaminantima (Jongen i sur., 1985).

Male koncentracije anorganskog arsena iz morske vode akumuliraju se u morskim životinjama. Morske životinje nakupljaju arsen prvenstveno hranom. Razine arsena u morskim vodama otvorenih mora su 1-2 µg/L. Arsen je tu prisutan uglavnom kao anorganski arsenat, pogotovo u dubljim vodama. U višim površnim fotonskim slojevima, gdje prodire dovoljna sunčeva svjetlost za fotosintezu, provodi se redukcija i metilacija mikroorganizama. Osim As (V) oblika, površinske vode sadrže i As (III), MA i DMA u malim količinama (Borak i sur., 2007).

Alge i fitoplanktoni iz morske vode unose arsenate putem trans-membranskog transportnog sustava koji se inače koristi za unos esencijalnih fosfatnih aniona. Nakon unosa alge brzo detoksiciraju arsenat redukcijom i metilacijom u arsenit što rezultira formiranjem DMA i arsenošećera u procesu koji uključuje S-adenozilmetionin koji je donator metilne skupine i ribozil skupine. Koncentracije arsena u algama su oko 2-50 mg/kg suhe mase (WHO, 2001a).

Arsen nije ravnomjerno distribuiran u tkivima morskih životinja. Uglavnom se akumulira u egzoskeletu beskralješnjaka te u jetri ribe. Koncentracije ukupnog arsena, kao i specifične vrste arsena su promjenjive. Na primjer anorganski arsen nalazimo gotovo isključivo u unutarnjim organima (crijeva, jetra, želudac, srce, škrge) dok je sadržaj arsena u mišićima gotovo u potpunosti arsenobetain. To ukazuje kako se oblici arsena i ukupna koncentracija u morskim organizmima razlikuju obzirom na konzumirano tkivo (Kirby i Maher, 2002).



#### 1.2.4. Živa

Živa (Hg) je kemijski element koji pripada teškim metalima i prisutan je u elementarnom ( $\text{Hg}^0$ ), anorganskom i organskom obliku. Tijekom biogeokemijskog kruženja dolazi do pretvaranja žive iz elementarnog oblika u anorganske i organske spojeve. Prirodni izvori ispuštanja žive u okoliš su prvenstveno erupcije vulkana, erozije tla, oslobađanje iz stijena i bakterijske razgradnje organskih živinih spojeva. U antropogene izvore spadaju dobivanje žive iz živine rude, izgaranje fosilnih goriva, industrije koje koriste živu u tehnološkim procesima, termoelektre, spaljivanje otpada, rudnici, rafinerije zlata i srebra (Gray, 2002). Postoje dva ciklusa transporta i distribucije žive u okolišu. Jedan je globalni i uključuje atmosferske cirkulacije elementarne živine pare iz izvora na kopnu do oceana. Drugi ciklus je lokalni i ovisi o metiliranju anorganske žive prvenstveno iz antropogenih izvora.

Elementarna živa je tekućina na sobnoj temperaturi. Lako se otpušta u atmosferu u obliku živine pare zbog visokog tlaka pare. Anorganski spojevi žive postoje u dva oksidacijska stanja ( $\text{Hg}^+$  i  $\text{Hg}^{2+}$ ) koji su uglavnom u krutom stanju, kao i živine soli i živini spojevi s klorom, sumporom ili kisikom. Metil-živa i etil-živa su uobičajeni organski oblici žive kombinirani s ugljikom. Metil-živa se formira metilacijom anorganske žive djelovanjem mikroorganizama u okolišu i kao takva ulazi u vodeni hranidbeni lanac. Najviše koncentracije žive pronađene su kod predatorskih riba i morskih sisavaca. Zbog toga je ljudska populacija koja konzumira ribu izložena metil-živi. Glavni oblici žive kojima su izložene populacije ljudi su metil-živa iz plodova mora, anorganska živa iz hrane, i živine pare iz zubnih amalgama (Satoh, 2000).

Atmosfera je prije svega transportni put emisije žive, dok kopneni i oceanski procesi igraju važnu ulogu u preraspodjeli žive u kopnenom, slatkovodnom i morskom ekosustavu. Prijelaz žive u vodeni i kopneni ekosustav ovisi prvenstveno o kemijskim i fizičkim oblicima. Elementarna živa  $\text{Hg}^0$  se može transportirati na velike udaljenosti, a atmosfersko vrijeme zadržavanja joj je nekoliko mjeseci do godinu dana.  $\text{Hg}^{2+}$  ima puno kraće atmosfersko zadržavanje od  $\text{Hg}^0$ , odnosno, pohranjuje se lokalno ili regionalno. Metil-živa ( $\text{CH}_3\text{-Hg}$ ) je



glavni oblik žive u okolišu i glavni oblik nakupljanja u životinjama i čovjeku. Postoji razlika između primarnih i sekundarnih izvora emisije žive. Primarni izvori, prirodni i antropogeni, prenose živu iz litosfere u atmosferu koja se taloži na kopnu i u oceanima. Ovako deponirana živa se može reducirati u  $Hg^0$ , a zatim ponovno vratiti u atmosferu. Takvi procesi predstavljaju sekundarne izvore (Driscoll i sur., 2013).

#### **1.2.4.1. Toksikokinetika i toksikodinamika žive**

Oko 7 do 15 % anorganskih živinih spojeva apsorbira se u probavnom traktu nakon konzumacije. Anorganska živa se može apsorbirati kroz epidermu preko žlijezda znojnica, lojnica i folikula dlake. Živine soli su obično nehlapive krute tvari tako da su trovanja udisanjem rijetka. Najviše koncentracije anorganske žive pronađene su u bubrezima, što je i njezin ciljni organ. Proksimalne cjevčice su primarna meta nakupljanja živinih soli. Biološko vrijeme poluraspada se procjenjuje na oko 60 dana (Park i Zheng, 2012).

Oralnim unošenjem elementarna živa se slabo apsorbira u probavnom traktu, manje od 0,01 %. Slučajnim gutanjem elementarne žive, kao kod loma termometra, toksičnost je rijetka i uglavnom se ne očekuje. Međutim, oštećenje na probavnom traktu može promijeniti mukoznu barijeru i omogućiti povećanu biodostupnost. Dermalna apsorpcija elementarne žive također je ograničena. Inhalacija u obliku živine pare je glavni put izloženosti elementarne žive. Udahnute živine pare se lako apsorbiraju u pluća i vrlo brzo dospijevaju u krv i distribuiraju u organe u tijelu (ATSDR, 1999). Apsorbirana elementarna žive se oksidira u oblik  $Hg^{2+}$  u crvenim krvnim stanicama i tkivima. Međutim, živine pare se za razliku od anorganskih soli akumuliraju u središnjem živčanom sustavu (Hudson, 1987). Primarni organi u kojima se živa nakuplja nakon udisanja para elementarne žive su mozak i bubrezi. Elementarna živa se snažno veže za selen ili SH-skupine nakon oksidacije u mozgu što može doprinijeti dugoročnoj kumulaciji u mozgu (Friberg i Mottet, 1989).



Metil-živa se gotovo potpuno apsorbira (95-100 %) u ljudskom probavnom traktu, od čega se 90 % eliminiran fecesom. Metil-živa je prisutna u tijelu kao u vodi topivi kompleks, koji se veže uglavnom s atomom sumpora iz tiolnog liganada i prelazi krvno-moždanu barijeru vezana s L-cisteinom u molekulu nalik metioninu (Clarkson, 2002). Metil-živa se lako apsorbira kroz crijeva i nakuplja u mnogim tkivima, ali ne prelazi krvno-moždanu barijeru tako učinkovito kao elementarna živa. Međutim, na ulasku u mozak dolazi do demetiliranja u elementarnu živu (Bernhoft, 2012).

#### **1.2.4.2. Toksičnost žive u čovjeka**

Općenito,  $Hg^+$  spojevi su manje toksični od  $Hg^{2+}$  spojeva zbog manje topivosti u vodi. Iako je apsorpcija  $Hg^{2+}$  spojeva puno slabija u usporedbi s organskim živinim spojevima, ona štetno djeluju nakon unosa u živi organizam (Satoh, 2000). Živine soli su više korozivne od elementarne žive što povećava probavnu propusnost i apsorpciju. Akutno visoke doze živinih soli prvenstveno uzrokuju bol u prsima i teške gastrointestinalne simptome zbog korozivnih oštećenja probavnog trakta. Kod kroničnog anorganskog trovanja dolazi do oštećenje bubrega, uglavnom proksimalnih kanala. Klinički simptomi i znakovi su poliurija i proteinurija koji se u težim slučajevima mogu razviti u bubrežni sindrom s hematurijom i anurijom (Clarkson, 2006). Svjetska zdravstvena organizacija FAO/WHO je predložila "Prihvatljivi dnevni unos" za živu (ADI, Acceptable daily intake) koji iznosi 43  $\mu g$  ukupne žive/dan za osobe od 60 kg (FAO/WHO, 1989).

U Tablici 3 navedeni su oblici žive i njihovi putevi apsorpcije, distribucije i izlučivanja. Akutna izloženost visokim razinama živinih para može dovesti do teškog oštećenja pluća, čak i smrti zbog hipoksije. Akutno trovanje živinim parama udisanjem obično se javlja nesretnim slučajem kod industrijskih radnika koji su s njima u kontaktu. Posljedice trovanja su tremor, parestezija, gubitak pamćenja, pretjerana podražljivost i odgođeni refleks koji je obično reverzibilne prirode (Liu i sur, 2008). Kod kronične



izloženosti živinim parama ciljni organi toksičnih učinaka su središnji živčani sustav i bubrezi.

Iako odrasli mogu imati neurološke posljedice kada su izloženi visokim koncentracijama metil-žive, povećana zabrinutost je usmjerena na djelovanje metil-žive na razvoj živčanog sustava nerođene djece i djece u razvoju. Posteljica je sposobna zaustaviti mnogo toksičnih elemenata, ali metil živa je iznimka po tome što može proći kroz posteljicu te se akumulira u višim koncentracijama u fetalnom dijelu, a ne na majčinoj strani. Negativna situacija za razvoj fetusa je što živa prelazi i krvno-moždanu barijeru te se dugoročno zadržava nakon prolaska. Razaranje moždanih stanica u samim počecima sprečava daljnji razvoj stanica što ograničava razvoj mozga i živaca.

Minamata bolest opisuje trovanje metil živom ljudi koji su živjeli uz Minamata zaljev u Kyushu, Japan 50-ih i 60-ih godina. Izvor metil žive bila je voda iz kemijske tvrtke gdje se živa koristila kao katalizator u proizvodnji acetaldehida. Metil živa se koncentrirala u hranidbenom lancu što je kod miještana rezultiralo vrlo visokim koncentracijama u njihovoj prehrani bogatoj ribi i školjkama. Broj žrtava u Minamata zaljevu bio je preko 2 200 (Watanabe i Satoh, 1996).

Budući da su organski živini spojevi prvo korišteni kao sredstva za obradu sjemena dolazilo je i do trovanja nastalih konzumiranjem takvih pšeničnih zrnja i to u više navrata. U Iraku su zabilježene tri epidemije trovanja: jedna od 1955.-1956., druga od 1959.-1960., te treća i najveća epidemija dogodila se u razdoblju 1971.-1972. Te epidemije su uzrokovane zbog distribucije sjemenki žitarica tretiranih s metil živom. Stanovnici u ruralnim sredinama koristili su tretirano sjemenje namijenjeno sjetvi za izradu domaćeg kruha. Ukupan broj žrtava iznosio je oko 6530, od toga 459 sa smrtnim posljedicama (Satoh, 2000).

Metil-živa se apsorbira u posteljici i pohranjuje u mozgu fetusa u koncentracijama koje prelaze razine u majčinoj krvi. Nakon izlaska iz stanice u kompleksu sa reduciranim glutationom metil-živa se razgrađuje u žučovodu na L-cistein kompleks. Samo 10 % metil-žive se eliminira putem bubrega. Ostatak se reciklira u jetri ili demetilira pomoću crijevne mikroflore i eventualno eliminira fecesom (Cernichiari i sur., 1995). Većina metil-žive kod



životinja se degradira i eliminira iz organizma kao anorganska živa brzinom od jedan % po danu. Jetrena resorpcija je značajna u metabolizmu metil-žive jer se više od 70 % resorbira iz crijeva i vrati u jetru. Utvrđeno je da je anorganska živa glavni oblik žive u moždanom tkivu čovjeka izloženog letalnim dozama metil-žive. Pretvorba metil-žive u anorganski oblik odvija se u fagocitima jetre ili u astrocitima mozga (Clarkson, 2002).

**Tablica 3:** Oblici žive i njihovi putevi apsorpcije, distribucije i izlučivanja

	Metil-živa	Elementarna živa	Anorganska živa
Izvor	Riba, perad, pesticidi	Zubni amalgami, fosilna goriva, lateks boje, termometri	Demetiliranje metil-žive pomoću crijevne mikroflore; biološka oksidacija elementarne žive
Apsorpcija	95-100 % u probavnom sustavu	75-85 % apsorpiranjem para	7-15 % gutanjem; 2-3 % apsorpcijom putem kože kod životinja
Distribucija	Distribucija po cijelom tijelu; lako prolazi krvno-moždanu i placentalnu barijeru; nakuplja se u mozgu i bubrezima	Distribucija po cijelom tijelu; lako prolazi krvno-moždanu i placentalnu barijeru; nakuplja se u mozgu i bubrezima	Ne prolazi krvno-moždanu i placentalnu barijeru; pronađena u mozgu novorođenčeta, nakuplja se u bubrezima





**Tablica 3.** (Nastavak)

Metabolizam	Kompleks cisteina potreban za unutarstaničnu apsorpciju; polako se demetilira u anorgansku živu u mozgu pomoću makrofaga	Oksidira unutar stanice u anorgansku živu pomoću katalaze i vodikovog peroksida	Metiliranje pomoću crijevne mikroflore; veže se i uzrokuje biosintezu metalotioneina
Izlučivanje	90 % žući i fecesom; 10 % urinom	Urin, feces, znoj i slina	Urin, žuč, feces, znoj i slina
Uzrok toksičnosti	Demetiliranje u anorgansku (dvovalentnu) živu; vezanje na tiolne skupine u enzimima i strukturnim proteinima	Oksidacija u anorgansku (dvovalentnu) živu	Vežanje na tiolne skupine u enzimima i strukturnim proteinima

Ciljni organi toksičnih učinaka metil-žive uključuju središnji živčani sustav. Simptomi kronične toksičnosti su parestezija, periferna neuropatija, cerebralna ataksija, grčevi, gubitak pamćenja, demencija, suženje vidnog polja, dizartrija, oslabljenje sluha, njuha i okusa, tremor i depresija (Patrick, 2002).



### 1.2.4.3. Živa u morskim sisavcima

Porijeklo i kruženje metil-žive u morskom okolišu nije u potpunosti razjašnjeno. Pojedine studije pretpostavljaju da metil-živa potječe iz dubinskih sedimenata (Ogrinc i sur., 2007), dok je u nedavnim istraživanjima provedenim na otvorenim vodama Mediterana zaključeno da je većina metil-žive u vodi generirana *in situ* pomoću planktonskih organizama (Cossa i sur., 2009). Nakon ulaska u vodeni hranidbeni lanac metil živa ima tendenciju vezanja za sulfhidrilne skupine proteina i biomagnifikacije u višim trofičnim organizmima (Mason i sur., 2006).

Za vrste koje obitavaju u dubokim vodama smatra se da akumuliraju više koncentracije teških metala od onih u plitkim vodama, vjerojatno kao posljedica njihove veće dugovječnosti i trofičke razine. Tako su relativno visoke količine žive pronađene u brojnim dubokomorskim ribama (Koenig i sur., 2013). Ispitivanja provedena u sjevernim područjima Pacifičkog oceana također su pokazala da su razine žive više u pelargičnim predatorima koji se hrane na dubljim morskim dubinama (Choy i sur., 2009).

U ribi živa se gotovo u potpunosti javlja u organskom obliku (obično > 80 %) i rijetko prelazi 1 µg/g mokre težine (Cappon i Smith, 1982). Međutim, u tkivu jetre morskih sisavaca i ptica koji se hrane ribom, metil-živa se obično nalazi u vrlo malom postotku (< 10 % od ukupnih koncentracija žive). Takvo smanjenje relativnog udjela organske žive koja prelazi s plijena na predatora smatra se dokazom procesa biotransformacije u kojem se metil-živa razgrađuje u manje toksičan anorganski oblik skladištenja (Nigro i sur, 1996).

Morski sisavci su u načelu izloženi metil živi koja je glavni fizikalno-kemijski oblik pohrane u ribama i lignjama. Ipak, najveći dio žive akumuliran u morskim sisavcima jetre je anorganski što upućuje na jetru kao mjesto demetiliranja žive (Caurant i sur., 1996).

Morski sisavci su završne točke bioakumulacije žive u morskom hranidbenom lancu. Mogu akumulirati živu u jetri u koncentracijama višim od 100 µg/g mokre težine bez pojave simptoma trovanja (Ng i sur., 2001). Jetra je glavni organ živine akumulacije, slijede ga bubreg i pluća, a zatim i koža i kosti.



Tijekom posljednjih desetljeća veliki broj studija odnosi se na problematiku tragova teških metala u morskim organizmima, naročito vezanih za razine žive u kitovima. Rezultati većine istraživanja upućuje na visoku varijabilnost u koncentracijama žive. Zbog dugotrajne postojanosti i visoke mobilnosti u morskom ekosustavu živa pokazuje visoku razinu biomagnifikacije u višim razinama hranidbenog lanca (Frodello i sur., 2000).

U morskom ekosustavu, hranidbeni lanac je uglavnom zagađen metil-živom zbog djelovanja anaeroba. Živa se akumulira u jetri dupina uglavnom u anorganskom obliku, premda su srdele i lignje koje oni konzumiraju najviše kontaminirane metil-živom (Ng i sur., 2001).

Vrlo mali broj istraživanja bavio se ispitivanjima koncentracija žive u plućima kitova. Augier i sur. (1993a) su pretpostavili da živa može prodrijeti iz atmosfere u pluća, što može djelomično objasniti razmjerno visoke vrijednosti pronađene u tom organu. Utvrđene koncentracije u plućima plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*) kretala su se od 3 do 396 µg/g suhe težine. Leonzio i sur. (1992) su ustanovili da budući da dupini akumuliraju živu 10 - 100 puta višu od ribe iz iste trofične razine (tuna, sabljarka) i prosječnog životnog vijeka, razlika između sisavaca i riba može ovisiti o razlikama u njihovom dišnom sustavu.

Razmjerno visoke razine žive su primijećene kod plavobijelih dupina s različitih područja Mediterana (Andre i sur., 1991; Leonzio i sur., 1992; Augier i sur., 2001, Roditi-Elasar i sur., 2003), dok su vrijednosti žive u uzorcima porijeklom s francuske atlantske obale znatno niže (Andre i sur., 1991). Te razlike se uglavnom objašnjavaju prisutnošću geoloških izvora žive i fotokemijskim transformacijama u mediteranskoj regiji (Ebinghaus i sur., 2009).

Međutim, Lahaye i sur. (2006) su uočili da u određenoj dobi mediteranski i atlantski prugasti dupini pokazuju usporedive koncentracije žive. Naime, nedavna otkrića ukazuju na to da pored trofičkog položaja i dobi, odnosno, tjelesne mase, dubina staništa ima značajnu ulogu u akumulaciji žive u organizmu, a razina žive može se povećati s povećanjem morske dubine (Koenig i sur., 2013). Dakle, atlantski plavobijeli dupini koji se hrane uglavnom mesopelargijskim plijenom mogu sadržavati koncentracije žive slične onima iz Mediterana



gdje se plavobijeli dupini prvenstveno hrane glavonošcima i demersalnom ribom iz gornjih slojeva mora (Lahaye i sur., 2006).

Reproduktivne aktivnosti kao što su trudnoća, porod i dojenje mogu uzrokovati promjene koncentracija metala. Canella i Kitchener (1992) pronašli su znatno niže razine žive kod trudnica i dojilja ulješura (*Physeter macrocephalus*) u usporedbi s nerasplodnim ženjkama. Također su sugerirali da ova pojava može biti posljedica hormonalnih promjena ili stresa koji uzrokuje preraspodjelu žive u tkivima.

#### **1.2.4.4. Utjecaj selen na toksikokinetiku i toksikodinamiku žive**

Živa se prirodno nalazi u okolišu u različitim kemijskim oblicima, a metil-živa (Me-Hg) predstavlja posebnu zabrinutost u vodenom okolišu. Ona je najotrovniji oblik žive koja se nakuplja i biomagnificira u hranidbenom lancu i doseže najviše koncentracije kod grabežljivaca na vrhu hranidbenog lanca. Kod morskih sisavaca glavni put izloženosti odvija se putem prehrane. Kada se unese u organizam metil-živa se lako apsorbira u probavnom traktu gdje tvori kompleks s aminokiselinom cisteinom i tako može lakše ući u stanice. Naposljetku, ovaj novi kompleks se transportira u jetru gdje se pretvara u manje toksičan anorganski oblik živa-selenid (HgSe) koja služi kao učinkovita adaptacija na visoke dnevne unose metil-žive (Borrell i sur., 2014).

Kao esencijalni element, selen je sastavni dio enzima glutation peroksidaze i štiti membranske lipide, proteine i nukleinske kiseline od oštećenja oksidanata i slobodnih radikala (Liu i sur., 2008). Selen ima različite bioanorganske interakcije pa može reagirati s metalima i formirati netopive selenide čime se smanjuje toksičnost metala. Zaštitna uloga u ublažavanju neurotoksičnih učinaka žive odavno je dokazana (Liu i sur., 2008). Prvo izvješće o zaštitnom učinku selenita u odnosu na toksičnost žive se spominje 1967. Koeman i sur. (1973) su određivali sadržaj žive i selen u morskim organizmima. Rezultati su pokazali da su



u jetri i mozgu tuljana, dupina i pliskavica iz svih krajeva svijeta, koncentracije žive povezane s koncentracijama selena. Ustanovljeno je da se koncentracije žive i selena pojavljuju u omjeru 1:1. Između molarnih koncentracija selena i žive u jetri La Plata riječnih dupina (*Pontoporia blainvillei*) postoji značajan pozitivan linearni odnos (Seixas i sur., 2007). Slični podaci vrijede i za druge morske sisavce. Korelaciju između ova dva elementa su kod ljudi potvrdili Kosta i sur. (1975). Također je ustanovljen molarni omjer 1:1 u organima štitnjače, hipofize, i bubrega kod ljudi nakon dugotrajnog izlaganja visokim razinama anorganske žive (Beijer i Jernelov, 1978).

Kod morskih sisavaca živa se unosi prehranom uglavnom u metiliranom obliku (MeHg), a zatim se pretvara u manje toksičan oblik, anorgansku živu. Stoga je velik dio žive pohranjen u jetri u anorganskom obliku. Selen detoksificira anorgansku živu formiranjem kompleksa koji sadrži oba elementa u ekvimolarnom omjeru. Rawson i sur. (1995) su pronašli živu-selenid u jetri i dišnom sustavu dobrih dupina (*Tursiops truncatus*) i bjeloleđih dupina (*Globicephala macrorhynchus*). U dobrom dupinu izmjerene su relativno visoke koncentracije žive u plućima (264  $\mu\text{g/g}$  suhe težine). Nadalje, živa selenid (HgSe) je pronađena u jetri nekih vrsta morskih sisavaca pa se pretpostavlja da je to konačni, inertni proizvod detoksikacijskog procesa u tim morskim životinjama. Selen također djeluje na toksičnost drugih metala izuzev žive. Kadmij, bakar, olovo, platina, kositar i talij također tvore kompleks sa selenom što je eksperimentalno dokazano kod životinja. Iako su mnoge studije provedene kako bi se okarakterizirala akumulacija žive u višim trofičkim morskim životinjama, detoksikacijski mehanizam žive i selena, kao i razlike u međudjelovanju u različitim vrstama organizama još nije u potpunosti razjašnjen (Ikemoto i sur., 2004).

Živini spojevi se uglavnom metaboliziraju u jetri gdje se mogu demetilirati ili su podvrgnuti konjugacijskim reakcijama s glutationom i selenom. Formiranje netopljivih spojeva žive i selena se smatra procesom kojim selen može spriječiti živinu toksičnost. S druge strane, selen je važan element koji je dio niza enzima (selenoenzima) u obliku selenocisteina. Budući da je selenol grupa (SeH) u selenocisteinu vrlo reaktivna, selenoenzimi su odrednice za očuvanje stanične homeostaze. Umanjenje selenoenzimskih funkcija je



povezano s razvojem više patoloških stanja kao što su srčane i neurodegenerativne bolesti (Branco i sur., 2012).

Koeman je primijetio visoku korelaciju između žive i selena u morskim sisavcima i sugerirao zaštitni učinak selena protiv toksičnosti žive (Koeman i sur. 1973). Kasnije su tiemanitna zrnca identificirana u jetri krupnozubih dupina (*Ziphius cavirostris*) i dobrih dupina (Martoja i Berry, 1980).

Visoke koncentracije žive u jetri povezuju se s njenom ulogom u biotransformaciji štetnih tvari (Honda i sur, 1983.; Thompson, 1990). Demetilacija, odnosno pretvaranje organske žive u manje toksični anorganski oblik zbiva se u jetri. Živa se u kitovima jetre pohranjuje u netopivom obliku živa selenida. Spojevi selena pomažu u zaštiti organizma kod oksidativnih oštećenja uslijed djelovanja žive (Cuvin-Aralar i Furness, 1991). U jetri dobrih dupina i glavatih dupina (*Grampus griseus*) vizualizirana je živa selenid pomoću elektronskog mikroskopa. On tvori sferične konkreције koje agregiraju i tvore granule ili kamence varijabilnih veličina (Nigro i Leonzio, 1996).

Rawson i sur. (1995) su otkrili da je živa selenid prisutna u jetri i dišnom sustavu dobrog dupina i bjeloleđeg dupina (*Globicephala macrorhynchus*).



### 1.3. Koncentracije toksičnih metala u dupina na Mediteranu

Sredozemno more je dom oko 20 različitih vrsta kitova. Najzastupljenije su vrste dupina: obični dupin (*Delphinus delphis*), dobri dupin (*Tursiops truncatus*), glavati dupin (*Grampus griseus*) i plavobijeli dupin (*Stenella coeruleoalba*). Gotovo da i nema podataka o metalima kod glavatih dupina, iako je ova vrsta prilično prisutna u svim umjerenim i tropskim oceanima i susjednim morima. Glavati dupin je vrsta koja živi na otvorenom moru i čiji je plijen gotovo isključivo lignja (Shoham-Frider i sur., 2002).

Očekivani poredak nakupljanja žive u organima dupina je jetra > slezena > masno tkivo > bubreg/pankreas > pluća > mišić > mozak > koža > krv. Poredak koncentracija žive kod glavatih dupina prikupljenih u mediteranskim obalnim vodama Izraela između 1993.-1999. je jetra > mišić > mozak > masno tkivo > bubreg > koža > sadržaj želuca > krv. Koncentracije žive u mišićima su više od očekivanih vrijednosti, a koncentracije utvrđene u jetri su iznad granica tolerancije (Shoham-Frider i sur., 2002). Slične visoke koncentracije žive pronađene su u primjercima glavatih dupina iz drugih područja Sredozemnog mora (Storelli i sur., 1999; Frodello i sur., 2000), dok su puno niže koncentracije pronađene u tkivu jetre tri glavata dupina primjerka pronađena u Velikoj Britaniji (Zonfrillo i sur., 1988; Law i sur., 2001). Uzorci u Velikoj Britaniji bili mlađi od onih na Mediteranu.

Koncentracije kontaminanta utvrđenih kod mediteranskih dobrih dupina su vrlo visoke u usporedbi s koncentracijama u nekim drugim područjima, a takve koncentracije mogu utjecati na reprodukciju i zdravlje dupina (Bearzi i sur., 2009). U dobrim dupinima iz Mediterana utvrđen je viši sadržaj žive (gotovo pet puta) od onog u dupinima iz Atlantskog oceana, dok plavobijeli dupin sadrže jednake koncentracije žive uzimajući u obzir godine (Lahaye i sur., 2006). U Atlantskom oceanu plavobijeli dupin se uglavnom hrane mesopelargijskom ribom i glavonošcima, a u Mediteranskom moru glavonošcima i demersalnom ribom. Koncentracija žive kod mesopelargijske i demersalne ribe je slična što objašnjava jednake koncentracije žive u tkivu plavobijelih dupina dupina Atlantskog oceana i Mediteranskog mora. Uočeno je da se kod dobrih dupina akumulacija kadmija znatno povećava s godinama dok to nije slučaj s plavobijelim dupina (Lahaye i sur., 2006).



Osim kontaminacije okoliša, mnogi drugi čimbenici kao što su dob, stanje organizma i prehrana utječu na koncentracije elemenata kod morskih sisavaca (Das i sur., 2004). Capelli i sur. (2008) su uočili da među pripadnicima iste vrste plavobijelih dupina, mlade jedinke pokazuju značajno niže koncentracije žive od odraslih što upućuje na snažan učinak dobi na akumulaciju žive. Isto su uočili i Shoham-Frider i sur. (2002) analizirajući prisutnost tragova metala kod dobrih dupina na izraelskom dijelu Mediteranskog mora. Pozitivnu korelaciju koncentracije žive s dobi u jetri, mišićima i koži dobrih dupina pokazali su i Roditi-Elasar i sur. (2003), ali nisu raspolagali dovoljnim brojem podataka da bi mogli potvrditi učinak dobi na nakupljanje metala kod plavobijelih dupina. Kod obje vrste najviše koncentracije metala su nađene u jetri, osim kadmija koji se pretežno nakupljao u bubregu (Roditi-Elasar i sur., 2003).

U usporedbi s drugim grabežljivcima u morskom hranidbenom lancu, kao što su tuna i sabljarka, dupini akumuliraju živu i do 2-3 puta više, najčešće u jetri. Ova razlika jasno ističe da su i drugi čimbenici osim pozicije u hranidbenom lancu odgovorni za vrlo visoke razine žive u tkivu dupina. Sposobnost tih životinja za razgradnjom metil-žive, koja je glavni oblik žive u plijenu, do manje toksične anorganske žive kao i kombinirana akumulacija žive i selena, su mehanizmi odgovorni za sposobnost dupina da podnose visoke koncentracije žive u tkivu.

Godine 1973. Koeman je prvi pokazao korelaciju između koncentracija žive i selena među morskim sisavcima u Sjevernom moru u molarnom omjeru 1:1. Vrlo visoke koncentracije žive, najčešće povezane s visokim razinama selena, pronađene su u jetri i slezeni odraslih jedinki prugastih dupina nasukanih u Ligurijskom moru (Capelli i sur, 2000). Sličan fenomen je uočen kod morskih sisavaca u Mediteranskom moru, Japanskoj obali Pacifičkog oceana i na kanadskom Arktiku (Ng i sur., 2001). Prisutnost selena i anorganske žive u molarnom omjeru 1:1 u tkivu jetre potvrđuje zaštitnu ulogu selena u odnosu na toksičnost žive (Capelli i sur, 2000).

Nigro i Leonzio (1993) su izračunali prosječan dnevni unos hrane malih kitova koji iznosi oko 3 kg ribe i glavonožaca, s prosječnom koncentracijom žive od 0,3 mg/kg mokre mase: Na temelju toga se može procijeniti srednji unos žive za odrasle jedinke oko 0,9 mg/dan žive za cijelu životinju.





Biomagnifikacijski faktor (BMF) s obzirom na koncentraciju žive u prehrani je također visok i razlikuje se za više od jednog reda veličine od BMF-a velike plave ribe slične prehrane (Nigro i Leonzio, 1996). To znači da je sposobnost dupina da izluči živu vrlo niska. Slabi kapacitet uklanjanja žive mora biti uravnotežen različitim obrambenim mehanizmima. Tolerancija tako visokih koncentracija žive kod dupina proizlazi iz posebnih metaboličkih procesa. Pluća dupina nisu učinkovita kao škrge u izbacivanju metil-žive, niti dupini imaju znojne žlijezde ili krzno koje su dodatni putevi izlučivanja kod ostalih životinja. Međutim, oni demetiliraju živu i raspoređuju je uglavnom u jetri u obliku mikrokristala živa-selenida (Nigro i Leonzio, 1996). Ovo neobično vezanje žive i selen u anorganskom obliku izgleda kao učinkovita prilagodba visokim dnevnim unosima metil-žive. Demetilirajući/akumulacijski prag mediteranskih plavobijelih dupina procijenjen je na 100 µg/g mokre težine žive u jetri. Iznad te razine živa i selen nalaze se u jetri u ekvimolarnim količinama (Palmisano i sur., 1995). Dokazan je omjer Hg/Se na 57 jedinki dupina i on iznosi 0,8 (Monaci i sur., 1998).

Maksimalne koncentracije ukupne žive do sada zabilježene su u jetri plavobijelih dupina na obali Francuske (4400 µg/g suhe mase) i kod dobrog dupina (13 156 µg/g suhe mase) u Tirenskom moru (Endo i sur., 2004). Vrlo malo studija je proučavalo koncentracije žive u plućima kitova. Augier i sur. (1993a) su pretpostavili da živa može prodrijeti iz atmosfere u pluća, što se djelomično može objasniti relativno visokim vrijednostima pronađenim u ovom organu. Kod dobrih dupina u Mediteranu koncentracije žive u plućima su relativno visoke i iznose 264 µg/g suhe tvari odnosno 66 µg/g mokre tvari (faktor konverzije 0,25) (Frodello i sur., 2000).

Leonzio i sur. (1992) su ustanovili da budući da dupini akumuliraju živu u vrijednostima 10-100 puta većim od riba iste trofičke razine (tuna, sabljarka) i sličnog prosječnog životnog vijeka, razlika između sisavaca i riba može ovisiti o njihovom različitom respiratornom sustavu. Nadalje, Cossa i sur. (1994) su pretpostavili da pasivna difuzija plinovite dimetil-žive putem škrge može biti značajan put akumulacije metil-žive u ribama u Sredozemlju, uz onaj unesen njihovom prehranom. Škrge riba imaju funkciju izlučivanja. Kod sisavaca funkcija za izlučivanje nedostaje.



Najviše koncentracije selena u Sredozemnom moru upronađene su jetri plavobijelih dupina i iznose 960-2400 mg/kg suhe težine (Leonizio i sur., 1992) i 424,0 mg/kg mokre težine (Storelli i sur., 1998).

Prema Wagemannu (1983) bubreg je kritični organ za akumulaciju kadmija. On je utvrdio da kitovi pokazuju koncentracije kadmija više za 2-5 puta u bubrežnom tkivu u odnosu na jetru. Budući da se kadmij akumulira pretežno u bubrežima, Fujise i sur. (1988) su pokazali da disfunkcija bubrega može pojaviti kod morskih sisavaca ako je koncentracija kadmija u jetri veća od 20 µg/g mokre težine.

#### **1.4. Koncentracije toksičnih metala u dupina u svijetu**

Podaci o koncentracijama metala kod dobrih dupina (*Tursiops truncatus*), plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*) i glavatih dupina (*Grampus griseus*) dostupni su za područje Atlantskog oceana, Australije i Japana.

Francis i Bennett (1994) su pokazali značajne razlike u razini žive među spolovima kod nekoliko skupina morskih sisavaca. Kontaminacije teškim metalima u zrelih mužjaka morskih sisavaca mogu biti više nego u ženka iste seksualne faze zrelosti. Rejinders (1988) sugerira da ženke mogu prenijeti teške metale na dojenčad uglavnom preko placente i, u manjoj mjeri, laktacijom. Međutim, Agusa i sur. (2008) nisu zabilježili značajne razlike u akumulaciji metala između spolova. Koncentracije kadmija u jetri plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*) sa Sjevernog Pacifika i sjevernog dijela Atlantskog oceana su više od koncentracija u Mediteranskom i Baltičkom moru te brazilskoj obali. Suprotan trend se odnosio na živu.

Prosječna koncentracija žive u jetri ženki običnog dupina (*Delphinus delphis*) uz portugalsku obalu je 18,0 µg/g, što je dvostruko više nego kod muških dupina (7,02 µg/g). Također u mišiću i bubrežima izmjerene su više koncentracije žive kod ženki. Živa se također



bolje akumulira u jetri ženke dobrog dupina (Beck i sur., 1997). Koncentracija žive, nevezano uz spol, se smanjuje slijedom: jetra > bubreg > mišić, a raste s povećanjem dužine dupina (Zhou i sur, 2001).

Itano i suradnici (1984a) su pokazali da se koncentracija žive u tkivima plavobijelih dupina povećava s povećanjem dobi životinje dosegivši vrhunac između 20 i 25 godina. Uočili su prisutnost žive u metiliranom obliku kod fetusa i u fazi dojenja, međutim, nakon 10-te godine života udio metilžive se smanjuje tijekom vremena. Izlučivanje žive odvija se polako u svim razvojnim fazama, a najsporije kod starijih dupina što rezultira višom akumulacijom.

Najviša koncentracija selena zabilježena je u Južnoj Australiji u jetri dupina *Tursiops aduncus* i iznosila je 1188,4 mg/kg mokre težine (Lavery i sur., 2008).

Na Floridi i južnoj Karolini omjer Hg:Se kod dobrih dupina bio je znatno niži (0,2-0,4) kod mlađih životinja. Pretpostavili su da se molarni omjer Hg:Se 1 ne pojavljuje u jetri dupina dok ne dostignu zrelost. Također, taj se omjer lagano smanjuje kod dupina s godinama što može biti pokazatelj promjena u metabolizmu selena i žive koji se događa porastom Hg u tkivu (Stavros i sur., 2011).

Jetrene koncentracije selena koreliraju s jetrenim koncentracijama žive u omjeru 1:1 u dobrih dupina na Floridi i Južnoj Karolini (Stavros i sur., 2011). Ovi rezultati su slični istraživanjima koja ukazuju da je molarni omjer Hg:Se u tkivima jetre morskih sisavaca (*Tursiops truncatus* i *Grampus griseus*) blizu 1, posebno onih s visokim koncentracijama žive (Leonzio i sur, 1992; Nigro i Leonzio, 1996; Meador i sur, 1999; Durden i sur, 2007).

Koncentracije kadmija su gotovo uvijek najviše u bubregu i jetri, a najniže u masnom tkivu i mišiću (Dehn i sur, 2006). Visoke koncentracije od 71,3 mg/kg mokre težine izmjerene su u bubregu plavobijelih dupina iz Brazila, a uglavnom se pripisuju prehrani s visokim udjelom lignji (Dorneles i sur., 2007). Lavery i sur. (2009) su uočili da su koncentracije kadmija u jetri značajno više u skupini dupina s utvrđenim visokim razinama oštećenja bubrega, a poznato je da kadmij uzrokuje nefrotoksičnost. Kadmij ima biološki poluvijek 10-



---

30 godina, što znači da čak i povremeno uzimanje malih količina može dovesti do značajnog nakupljanja kod starijih životinja (Monteiro-Neto i sur., 2003).

Rakovi se smatraju važnim izvorom arsena u prehrani kitova (Kubota i sur., 2001, 2002). Najviše koncentracija arsena zabilježene u morskim sisavcima iznose 2,8 mg/kg mokre težine u kitovom ulju iz Norveške (Lunde, 1967) i 9,1 do 15,1 mg/kg suhe mase u mišićima, jetri i koži tkiva običnog dupin (*Delphinus delphis*) pronađene u Portugalu između 1998.-2002. (Carvalho i sur., 2002). Koncentracije arsena u jetri i bubrezima riječnog dupina (*Pontoporia blainvillei*) pokazale su značajnu korelaciju, što ukazuje na proporcionalnu akumulaciju (Seixas i sur., 2007).

## **2. MATERIJALI I METODE**



## 2.1. MATERIJALI

### 2.1.1. Uzorci

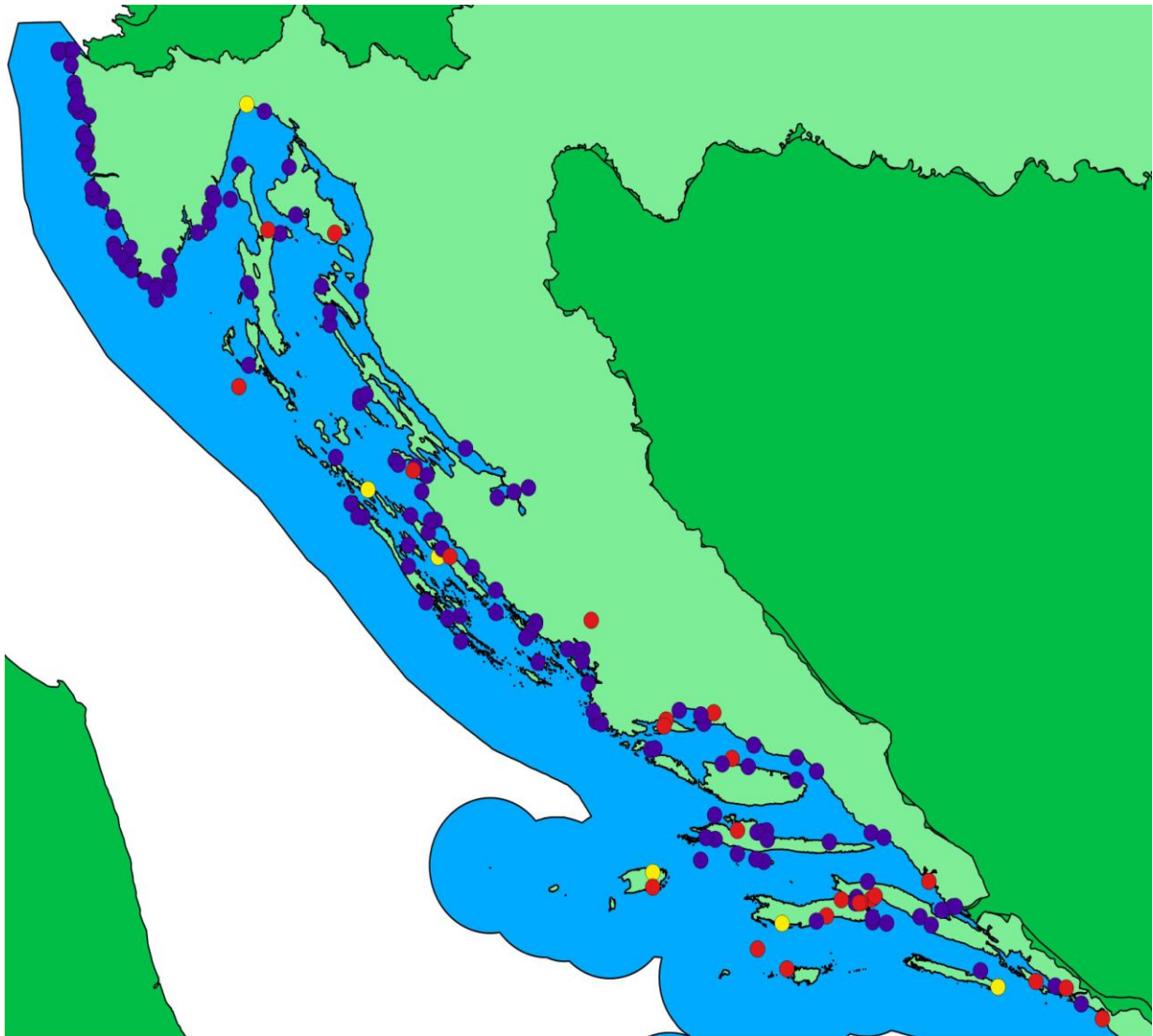
Ovo istraživanje provedeno je na ukupno 186 dupina, odnosno, 155 dobrih dupina (*Tursiops truncatus*), 25 plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*) i 6 glavata dupina (*Grampus griseus*) koji su pronađeni mrtvi u hrvatskom dijelu Jadranskog mora u razdoblju od prosinca 1995. do studenog 2013. a istraženi su u sklopu znanstveno-istraživačkog projekta (053-0533406-3640) Ministarstva znanosti, obrazovanja i športa Republike Hrvatske "Zdravstvene i biološke osobitosti populacija morskih sisavaca u Jadranu". 53 jedinke dobrih dupina prikupljene su u periodu od 1995.-2002., 75 jedinki pronađeno je u periodu između 2005.-2010., dok je u trećem periodu od 2011.-2014. prikupljeno 27 jedinki. 11 jedinki plavobijelih dupina prikupljeno je u periodu od 1999.-2005., 4 jedinke pronađene su u periodu između 2005.-2010., dok je u trećem periodu od 2011.-2012. prikupljeno 9 jedinki. Na Slici 1 prikazana su mjesta pronalaska ispitivanih dupina. U ovom radu hrvatski dio Jadranskog mora podijeljen je na dva dijela: područje od Maslenica prema sjeveru smatra se sjevernim dijelom, a od Maslenice prema jugu smatra se južnim dijelom. U sjevernom dijelu prikupljeno je 80 jedinki dobrog dupina, a u južnom dijelu 70 jedinki. Za pet jedinki nije poznato mjesto pronalaska.

Budući da se radi o zaštićenoj životinjskoj vrsti, od 1995. prikupljanje i obrada lešina dobrih dupina obavlja se u skladu s dopuštenjem za istraživanje dupina u teritorijalnim vodama Republike Hrvatske izdanim od nadležnih institucija. Lešine su obrađene prema istraživačkom obrascu za dupine na mjestu nalaza ili u Zavodu za anatomiju, histologiju i embriologiju Veterinarskog fakulteta, Sveučilišta u Zagrebu. Njihovi ostaci čuvaju se u Zavodu za anatomiju, histologiju i embriologiju Veterinarskog fakulteta, Sveučilišta u Zagrebu. Osim tkiva, u svrhu ovog istraživanja koristili su se podaci o spolu, dobi i vanjskim tjelesnim mjerama zabilježeni u istraživačkim obrascima (Tablica 4). Kod dobrog dupina uzorci su podijeljeni u četiri grupe: odrasli mužjaci i ženke ( $\geq 7$  godina), te muška i ženska mladunčad ( $\leq 6$  godina). Kriterij od 7 godina uzet je zbog spolne zrelosti dupina. Kod



plavobijelog dupina uzorci su podijeljeni na mužjake i ženke jer se radi o odraslim jedinkama dok se kod glavatog dupina nalazi samo jedna skupina i to odrasli dupini.

Koncentracije dupina izražave su u mg/kg mokre težine.



*Slika 1:* Mjesta pronalaska dupina: ● dobri dupin (*Tursiops truncatus*), ● plavobijeli dupin (*Stenella coeruleoalba*), ● glavati dupin (*Grampus griseus*)



**Tablica 4:** Dupini iz Jadranskoga mora, njihova oznaka, datum i mjesto nalaza, spol, dob (godine), tjelesna masa (kg) i ukupna tjelesna duljina (cm)

Oznaka	Datum nalaza	Vrsta (latinski naziv)	m (kg)	L (cm)	Dob (god)	Spol	Mjesto nalaza
12	21/12/1995	<i>Tursiops truncatus</i>	237,0	278	9,0	mužjak	Šibenski zaljev
13	19/04/1996	<i>Tursiops truncatus</i>		240	5,0	ženka	Banjole
20	08/10/1997	<i>Tursiops truncatus</i>	214,0	288,0	21,0	ženka	Pirovac
27	23/06/1999	<i>Stenella coeruleoalba</i>	99,0	198	11	mužjak	Skradin
32	01/11/1999	<i>Tursiops truncatus</i>	128,0	208	3	mužjak	Rovinj
34	14/11/1999	<i>Stenella coeruleoalba</i>	40,0	132	3	mužjak	Trogir
35	24/11/1999	<i>Tursiops truncatus</i>	163,0	258	14	ženka	otok Hvar
36	01/12/1999	<i>Tursiops truncatus</i>	156,0	282	13	mužjak	otok Šćedro
38	12/01/2000	<i>Tursiops truncatus</i>	261,0	286	21	ženka	Obrovac
39	02/03/2000	<i>Tursiops truncatus</i>	192,0	276	26	ženka	Duboka
40	17/03/2000	<i>Tursiops truncatus</i>	288,0	288	13	mužjak	Kornati
41	27/04/2000	<i>Tursiops truncatus</i>	224,0	261	12	ženka	otok Hvar
44	20/06/2000	<i>Grampus griseus</i>		297		mužjak	otok Molat
46	03/07/2000	<i>Tursiops truncatus</i>	23,7	122	<1	ženka	otok Cres
51	15/02/2001	<i>Tursiops truncatus</i>		275	21	ženka	otok Ugljan
53	15/03/2001	<i>Stenella coeruleoalba</i>	72,0	185		mužjak	otok Korčula
54	18/03/2001	<i>Tursiops truncatus</i>	236,0	281	17	ženka	otvoreno more
55	23/03/2001	<i>Tursiops truncatus</i>	62,0	165	2	ženka	otok Hvar
57	11/04/2001	<i>Tursiops truncatus</i>		246	7	ženka	Novigrad
60	15/06/2001	<i>Tursiops truncatus</i>			21	ženka	otok Škrda
62	19/07/2001	<i>Tursiops truncatus</i>	155,0	290	14	mužjak	otok Hvar
63	17/08/2001	<i>Tursiops truncatus</i>		200	2	ženka	Kaštel Štafilić
64	09/10/2001	<i>Tursiops truncatus</i>	305,0	312	17	mužjak	Novigrad Istarski
66	06/11/2001	<i>Tursiops truncatus</i>	199,0	283	26	ženka	Split
67	21/11/2001	<i>Grampus griseus</i>	248,0	303		ženka	Preluka
68	31/12/2001	<i>Grampus griseus</i>	305,0	318		mužjak	otok Karantunić
69	10/01/2002	<i>Grampus griseus</i>	268,0	302		mužjak	otok Mljet
70	18/01/2002	<i>Grampus griseus</i>	288,0	295		mužjak	otok Vis
71	19/01/2002	<i>Stenella coeruleoalba</i>	99,0	208	13	mužjak	otok Cres
72	05/01/2002	<i>Tursiops truncatus</i>	153,0	235	10	mužjak	Nin
73	05/02/2002	<i>Stenella coeruleoalba</i>	89,5	207	17	ženka	otok Korčula
74	08/02/2002	<i>Stenella coeruleoalba</i>	100,0	199	15	ženka	otok Brač
76	20/02/2002	<i>Tursiops truncatus</i>	177,5	272	12	mužjak	Novigradsko more
78	21/02/2002	<i>Stenella coeruleoalba</i>	86,0	202	15	ženka	Orebić
79	25/02/2002	<i>Stenella coeruleoalba</i>	91,0	198	22	ženka	Poreč
80	01/03/2002	<i>Tursiops truncatus</i>	324,0	294	17	mužjak	otok Ugljan
81	30/03/2002	<i>Stenella coeruleoalba</i>	66,7	188	12	mužjak	otok Vis
83	25/04/2002	<i>Tursiops truncatus</i>	180,0	266	11	ženka	Petrčani





**Tablica 4.** (Nastavak)

84	30/04/2002	<i>Grampus griseus</i>	185,0	286		mužjak	otok Korčula
87	16/06/2002	<i>Tursiops truncatus</i>	79,0	188	5	ženka	otok Korčula
88	18/06/2002	<i>Tursiops truncatus</i>	135,0	249	11	mužjak	Nin
89	21/06/2002	<i>Stenella coeruleoalba</i>	98,0	209	23	mužjak	Split
91	11/07/2002	<i>Tursiops truncatus</i>	246,0	280	13	ženka	Novigrad
92	02/08/2002	<i>Tursiops truncatus</i>	32,0	134	<1	ženka	otok Murter
96	22/08/2002	<i>Tursiops truncatus</i>	169,0	268	12	ženka	Poreč
97	10/11/2002	<i>Tursiops truncatus</i>	66,0	192	4	ženka	Pula
99	08/10/2002	<i>Tursiops truncatus</i>	249,0	256	12	mužjak	otvoreno more
100	23/10/2002	<i>Tursiops truncatus</i>	215,0	270	12	mužjak	Umag
101	31/10/2002	<i>Tursiops truncatus</i>	98,0	212	5	mužjak	Split
102	24/12/2002	<i>Tursiops truncatus</i>	216,0	262	20	ženka	ušće Mirne
103	14/03/2003	<i>Tursiops truncatus</i>	101,0	186	2	mužjak	otok Vir
104	17/07/2003	<i>Tursiops truncatus</i>	210,0	277	20	mužjak	otvoreno more
107	24/09/2003	<i>Tursiops truncatus</i>	57,0	172	3	ženka	Malostonski kanal
108	06/10/2003	<i>Tursiops truncatus</i>	209,0	277	17	ženka	Pirovac
109	10/10/2003	<i>Tursiops truncatus</i>	69,0	198	5	mužjak	otok Hvar
110	26/10/2003	<i>Tursiops truncatus</i>	43,5	160	<1	mužjak	Baška voda
111	30/11/2003	<i>Tursiops truncatus</i>	130,0	251	10	ženka	otok Ugljan
112	20/12/2003	<i>Tursiops truncatus</i>	268,0	303	20	mužjak	otok Pelješac
113	16/01/2004	<i>Tursiops truncatus</i>	144,0	215	7	mužjak	Rovinj
114	16/02/2004	<i>Tursiops truncatus</i>		277	19	ženka	Savudrija
115	16/04/2004	<i>Stenella coeruleoalba</i>	96,0	197	22	ženka	ušće Neretve
117	24/04/2004	<i>Tursiops truncatus</i>		279	16	ženka	otok Pelješac
118	10/05/2004	<i>Tursiops truncatus</i>		191		ženka	otok Krk
120	28/05/2004	<i>Tursiops truncatus</i>	206,0	284	15	ženka	otok Mljet
121	04/07/2004	<i>Stenella coeruleoalba</i>	68,0	203	12	ženka	otok Supetar
124	01/09/2004	<i>Tursiops truncatus</i>	205,0	301	17	mužjak	Novigrad
126	14/09/2004	<i>Tursiops truncatus</i>	182,0	266	19	mužjak	otok Korčula
127	20/09/2004	<i>Tursiops truncatus</i>	130,0	231	7	ženka	Savudrija
128	22/09/2004	<i>Tursiops truncatus</i>	60,0	190	4	ženka	Pula
129	24/09/2004	<i>Tursiops truncatus</i>	168,0	280	14	mužjak	Rovinj
131	14/12/2004	<i>Tursiops truncatus</i>	77,0	175	1	mužjak	otok Dugi otok
133	21/04/2005	<i>Tursiops truncatus</i>	110,0	249		mužjak	Dubrovnik
134	18/05/2005	<i>Tursiops truncatus</i>	128,0	223	3	mužjak	otok Murter
136	15/06/2005	<i>Tursiops truncatus</i>	161,0	260	7	mužjak	Rogoznica
138	16/07/2005	<i>Tursiops truncatus</i>	124,0	246	7	mužjak	otok Hvar
139	25/07/2005	<i>Tursiops truncatus</i>	239,0	294	21	mužjak	Umag
140	31/07/2005	<i>Tursiops truncatus</i>	13,0	117	<1	ženka	Lumbarda



Tablica 4. (Nastavak)

141	19/10/2005	<i>Tursiops truncatus</i>	197,0	282	18	ženka	otok Murter
142	22/10/2005	<i>Tursiops truncatus</i>	270,0	307	23	mužjak	Rogoznica
143	25/10/2005	<i>Tursiops truncatus</i>	163,5	263	20	ženka	Omiš
144	07/11/2005	<i>Tursiops truncatus</i>				ženka	Labin
145	16/11/2005	<i>Tursiops truncatus</i>			<1	ženka	otok Pelješac
146	12/12/2005	<i>Stenella coeruleoalba</i>	77,0	179	13	ženka	otok Korčula
149	28/04/2006	<i>Tursiops truncatus</i>	186,0	242	5	mužjak	Ližnjan
150	17/05/2006	<i>Tursiops truncatus</i>	87,0	186	4	ženka	Poreč
151	01/06/2006	<i>Tursiops truncatus</i>		258	13	ženka	Savudrija
152	05/07/2006	<i>Tursiops truncatus</i>	171,0	262	21	ženka	Rijeka
156	07/11/2006	<i>Tursiops truncatus</i>	71,0	171	<1	ženka	Rovinj
157	08/11/2006	<i>Tursiops truncatus</i>	67,0	196	6	mužjak	Ližnjan
158	19/02/2007	<i>Tursiops truncatus</i>	85,0	191	3	mužjak	Pula
159	10/04/2007	<i>Tursiops truncatus</i>	298,0	286	22	ženka	otok Pag
162	28/05/2007	<i>Tursiops truncatus</i>	216,0	300	26	mužjak	otok Vir
163	09/06/2007	<i>Tursiops truncatus</i>	27,5	128	<1	ženka	otok Korčula
167	04/08/2007	<i>Tursiops truncatus</i>		261	10	ženka	otok Rab
168	05/08/2007	<i>Tursiops truncatus</i>	89,0	199	3	mužjak	otok Šolta
169	20/08/2007	<i>Tursiops truncatus</i>	314,0	298	24	mužjak	Savudrija
170	24/08/2007	<i>Tursiops truncatus</i>	222,0	288	17	mužjak	otok Hvar
171	27/08/2007	<i>Tursiops truncatus</i>		290	22	ženka	otok Pag
172	12/09/2007	<i>Tursiops truncatus</i>	100,0	227	6	mužjak	Novigrad
173	21/09/2007	<i>Tursiops truncatus</i>	167,0	291	21	ženka	Ližnjan
174	30/09/2007	<i>Tursiops truncatus</i>	38,0	146	<1	ženka	Pisak
175	05/10/2007	<i>Tursiops truncatus</i>	47,0	162	2	ženka	Živogošće
177	06/12/2007	<i>Tursiops truncatus</i>	234,0	322	19	mužjak	Rogoznica
178	19/12/2007	<i>Tursiops truncatus</i>	148,0	275	12	mužjak	otok Brač
179	11/01/2008	<i>Stenella coeruleoalba</i>	59,0	192	11	mužjak	otok Krk
180	06/02/2008	<i>Stenella coeruleoalba</i>	68,0	204	?	ženka	otok Šipan
181	19/04/2008	<i>Tursiops truncatus</i>			5	ženka	otok Korčula
183	10/05/2008	<i>Tursiops truncatus</i>	218,0	267	14	ženka	otok Hvar
184	10/05/2008	<i>Tursiops truncatus</i>	11,5	118	<1	mužjak	otok Hvar
186	17/05/2008	<i>Tursiops truncatus</i>	204,0	299	16	ženka	Makarska
187	01/06/2008	<i>Tursiops truncatus</i>	22,5	128	<1	mužjak	Porozina
189	11/06/2008	<i>Tursiops truncatus</i>	8,0	99	<1	ženka	Zadar
191	07/07/2008	<i>Tursiops truncatus</i>	47,5	182	<1	mužjak	Umag
192	28/07/2008	<i>Tursiops truncatus</i>	35,0	132	<1	ženka	Kornati
193	04/08/2008	<i>Tursiops truncatus</i>	79,0	193	3	mužjak	otok Hvar
194	09/08/2008	<i>Tursiops truncatus</i>	206,0	285	20	mužjak	otok Hvar



**Tablica 4.** (Nastavak)

195	28/10/2008	<i>Tursiops truncatus</i>	154,0	272	27	mužjak	Barbariga
196	30/10/2008	<i>Tursiops truncatus</i>	166,0	280	26	ženka	Rovinj
197	31/10/2008	<i>Tursiops truncatus</i>			<1	mužjak	otok Cres
198	06/11/2008	<i>Tursiops truncatus</i>	117,0	226	5	ženka	Mljetski kanal
200	26/11/2008	<i>Tursiops truncatus</i>	277,0	298	28	mužjak	otok Dugi otok
202	03/12/2008	<i>Tursiops truncatus</i>			<1	ženka	Medulin
203	24/01/2009	<i>Tursiops truncatus</i>	218,0	280,0	25,0	ženka	Klek
204	07/04/2009	<i>Tursiops truncatus</i>	80,0	193,0	4,0	mužjak	Duga Luka
205	07/04/2009	<i>Tursiops truncatus</i>	72,0	171,0	<1	mužjak	Zadar
206	08/05/2009	<i>Tursiops truncatus</i>	119,0	210,0	5,0	ženka	Piškerica
209	24/07/2009	<i>Tursiops truncatus</i>	182,0	287,0	25,0	ženka	Savudrija
210	11/10/2009	<i>Tursiops truncatus</i>	33,0	154,0	1,0	ženka	Orašac
211	21/10/2009	<i>Tursiops truncatus</i>	232,0	302,0	20,0	mužjak	Šibenski kanal
212	09/01/2010	<i>Tursiops truncatus</i>	245,0	299,0	20,0	mužjak	Pakoštane
213	06/04/2010	<i>Stenella coeruleoalba</i>	109,0	15,0	<1	ženka	otok Korčula
214	06/04/2010	<i>Tursiops truncatus</i>	161,0	250,0	ispali zubi	mužjak	otok Kaprije
215	28/04/2010	<i>Tursiops truncatus</i>	304,0	278,0	19	mužjak	Telašćica
216	04/06/2010	<i>Tursiops truncatus</i>	53,0	176,0	3	ženka	Fažana
217	29/06/2010	<i>Tursiops truncatus</i>	160,0	281,0	13	ženka	Brijuni
218	18/07/2010	<i>Tursiops truncatus</i>			ispali zubi	mužjak	island Obrovanj
219	07/08/2010	<i>Tursiops truncatus</i>	50,0	148,0	<1	mužjak	Primošten
220	22/08/2010	<i>Tursiops truncatus</i>	89,0	218,0	6	ženka	open sea
221	21/08/2010	<i>Tursiops truncatus</i>	194,0	276,0	21	mužjak	bay Budava
222	27/08/2010	<i>Tursiops truncatus</i>	129,0		ispali zubi	mužjak	Poreč
223	28/08/2010	<i>Tursiops truncatus</i>	132,0	246,0	6	mužjak	Poreč
225	22/09/2010	<i>Tursiops truncatus</i>	163,0	264,0	11	ženka	Rovinj
227	28/10/2010	<i>Tursiops truncatus</i>	90,0	212,0	4	mužjak	Poreč
228	22/11/2010	<i>Tursiops truncatus</i>	194,0	274,0	27	mužjak	Trstenik
231	29/11/2010	<i>Tursiops truncatus</i>	137,0	233,0	8	mužjak	Njivice
232	04/12/2010	<i>Tursiops truncatus</i>	247,0	273,0	19	ženka	Maman
233	05/12/2010	<i>Tursiops truncatus</i>			ispali zubi	mužjak	Dugi otok
234	05/12/2010	<i>Tursiops truncatus</i>	187,0	284,0	20	ženka	Dugi otok
235	09/12/2010	<i>Tursiops truncatus</i>	117,0	220,0	5	ženka	Brijuni
236	09/12/2010	<i>Tursiops truncatus</i>	135,0	272,0	25	ženka	Poreč
239	05/01/2011	<i>Tursiops truncatus</i>	99,0		ispali zubi	mužjak	Iž
241	14/01/2011	<i>Tursiops truncatus</i>	314,0	288,0	22	mužjak	Brač
244	24/01/2011	<i>Stenella coeruleoalba</i>	89,0	213,0	30	mužjak	Hvar
245	10/03/2011	<i>Tursiops truncatus</i>	65,0	181,0	2	mužjak	Cres
246	11/03/2011	<i>Stenella coeruleoalba</i>	80,0	206,0	21	mužjak	Pelješac



Tablica 4. (Nastavak)

247	19/03/2011	<i>Tursiops truncatus</i>	105,0	202,0	3	mužjak	Pula
248	09/04/2011	<i>Tursiops truncatus</i>	155,0	260,0	15	ženka	Rovinj
249	22/04/2011	<i>Stenella coeruleoalba</i>	75,0	214,0	20	mužjak	island Lastovo
252	30/05/2011	<i>Tursiops truncatus</i>	150,0	277,0	20	ženka	Starigrad Paklenica
254	20/08/2011	<i>Tursiops truncatus</i>	192,0	289,0	17	mužjak	Osor
255	15/09/2011	<i>Tursiops truncatus</i>	46,0	158,0	1	mužjak	Rabac
256	15/10/2011	<i>Tursiops truncatus</i>	57,0	159,0	1	ženka	Premantura
257	17/01/2012	<i>Stenella coeruleoalba</i>	75,0	201,0	21	mužjak	Susak
258	25/01/2012	<i>Stenella coeruleoalba</i>	83,0	208,0	18	mužjak	Korčula
259	27/01/2012	<i>Stenella coeruleoalba</i>	73,0	210,0	17	ženka	Zaton, Dubrovnik
261	09/02/2012	<i>Stenella coeruleoalba</i>	69,0	213,0	10	mužjak	Čiovo
262	15/02/2012	<i>Tursiops truncatus</i>	136,0	232,0	3	ženka	Jelsa, Hvar
263	16/02/2012	<i>Stenella coeruleoalba</i>	78,0	210,0	17	mužjak	Privlaka, Zadar
265	01/04/2012	<i>Stenella coeruleoalba</i>	89,0	198,0	17	mužjak	Ždrelac, Pašman
266	06/05/2012	<i>Tursiops truncatus</i>	154,0	?	ispali zubi	ženka	Turanj
270	01/07/2012	<i>Tursiops truncatus</i>	15,0	105,0		ženka	Jelsa, Hvar
273	09/08/2012	<i>Tursiops truncatus</i>	?	?	?	?	Rovinj
274	15/08/2012	<i>Tursiops truncatus</i>	22,0	122,5		ženka	Starigrad
275	29/08/2012	<i>Tursiops truncatus</i>	?	275,0		mužjak	Pelješac
276	12/09/2012	<i>Tursiops truncatus</i>	227,0	286,0		mužjak	Poreč
278	03/10/2012	<i>Tursiops truncatus</i>	?	?		mužjak	Poreč
279	04/10/2012	<i>Tursiops truncatus</i>	?	?		mužjak	Bale
280	14/10/2012	<i>Tursiops truncatus</i>	24,0	129,0		ženka	Ist
282	27/10/2012	<i>Tursiops truncatus</i>	144,0	250,0		ženka	Bale
283	29/10/2012	<i>Tursiops truncatus</i>	60,0	173,0		ženka	Korčula
284	29/11/2012	<i>Tursiops truncatus</i>	310,0	315,0		mužjak	Šibenik
285	07/12/2012	<i>Tursiops truncatus</i>	235,0	287,5		mužjak	Novigrad
286	23/12/2012	<i>Tursiops truncatus</i>	57,0	173,0		ženka	Brač
288	12/02/2013	<i>Tursiops truncatus</i>	266,0	272,0		ženka	Vanga
289	24/03/2013	<i>Tursiops truncatus</i>	174,0	226,0		mužjak	Šibenik
292	02/06/2013	<i>Tursiops truncatus</i>	278,0	290,0		mužjak	Rabac
294	15/06/2013	<i>Tursiops truncatus</i>	104,0	236,0		ženka	Umag



## 2.1.2. Kemikalije

### 2.1.2.1. Certificirani referentni materijali (CRM)

- Arsen, 1000  $\mu\text{g/mL}$  arsena u 2% (v/v)  $\text{HNO}_3$ , Inorganic Ventures, Christiansburg, USA
- Kadmij, 1000  $\mu\text{g/mL}$  kadmija u 3% (v/v)  $\text{HNO}_3$ , Inorganic Ventures, Christiansburg, USA
- Olovo, 1000  $\mu\text{g/mL}$  olova u 0,5% (v/v)  $\text{HNO}_3$ , Inorganic Ventures, Christiansburg, USA
- Živa, 1000  $\mu\text{g/mL}$  žive u 5% (v/v)  $\text{HNO}_3$ , Inorganic Ventures, Christiansburg, USA
- Selen, 1000  $\mu\text{g/mL}$  standard selena za ICP, Perkin Elmer
- DORM-4, fish protein certified reference material for trace metals, NRC Institute for National Measurement Standards, Ottawa, Canada
- DOLT-4, dogfish liver protein certified reference material for trace metals, NRC Institute for National Measurement Standards, Ottawa, Canada

### 2.1.2.2. Ostale kemikalije

- Nitratna kiselina, ultračista, Carlo Erba reagents, Rodano, Italia
- Vodik-peroksid, Carlo Erba reagents, Rodano, Italia
- Kloridna kiselina, Kemika, Zagreb, Hrvatska
- 10 %  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ , modifikator matrice, Perkin Elmer, Shelton, USA
- 1% Magnezij, modifikator matrice, ChenScan, Elverum, Norveška
- 1 % Paladij-nitrat, modifikator matrice, Merck KGaA, Darmstadt, Njemačka



- Natrij-hidroksid, Kemika, Zagreb, Hrvatska
- Natrij-borhidrid, Sigma-Aldrich chemie, Steinheim, Njemačka

## 2.1.3. Laboratorijska oprema

### 2.1.3.1. Laboratorijski uređaji

- Analitička vaga, Ohaus Pioneer, Ohaus Corp. Pine Brook, NY USA
- Homogenizator s noževima (ili mikser)
- Mikrovalna pećica Multiwave 3000, Anton Paar
- Atomski apsorpcijski spektrometar, Aanalyst 800, Perkin Elmer
- Atomski apsorpcijski spektrometar, Aanalyst 600, Perkin Elmer
- Sustav induktivno spregnute plazme- optičke emisijske spektroskopije, Perkin Elmer
- FIMS sustav (sistem za analizu žive injektiranjem), Perkin Elmer

### 2.1.3.2. Laboratorijski pribor

- Odmjerna tikvica od 100 mL
- Odmjerna tikvica od 25 mL
- Odmjerna tikvica od 50 mL
- Odmjerna tikvica od 2000 mL
- Odmjerna tikvica od 1000 mL
- Mikropipeta od 0,1-1  $\mu$ L, Brand
- Mikropipeta od 10 -100  $\mu$ L, Hirschmann Laborgeräte



- Mikropipeta od 20-200  $\mu\text{L}$ , Hirschmann Laborgeräte
- Mikropipeta od 100-1000  $\mu\text{L}$ , Eppendorf
- Mikropipeta od 0,5-5 mL, Eppendorf
- Laboratorijske čaše od 10-1000 mL
- Pasteurove pipete od 5 mL
- PTFE membrana
- EDL lampa za arsen
- EDL lampa za olovo
- EDL lampa za kadmij
- EDL lampa za živu
- EDL lampa za selen
- Kivete od polipropilena 1,2 mL
- Grafitna kiveta sa L' Vov-om platformom, široka
- Grafitna kiveta sa L' Vov-om platformom, sa suženim završetkom (*end cap*)
- Polipropilenske epruvete od 50 mL sa čepom
- Argon 5,0
- Ciklonska komora za raspršivanje
- Meinhard raspršivač



## 2.1.4. Priprema otopina

### 2.1.4.1. Standardne otopine i otopine za AAS

Za kalibriranje instrumenta potrebno je pripremiti otopine standarda za kadmij, olovo, arsen i selen kao što slijedi:

*Bazna otopina kadmija 1 mg/L:*

Otpipetirati 100  $\mu\text{L}$  standarda kadmija za AAS (1000 mg/L) u odmjernu tikvicu od 100 mL te dopuniti do oznake ultračistom vodom.

*Standardne otopine kadmija 1  $\mu\text{g/L}$  i 5  $\mu\text{g/L}$  :*

Otpipetirati 100 i 500  $\mu\text{L}$  bazne otopine kadmija 1mg/L u dvije odmjerne tikvice od 100 mL, dodati 200  $\mu\text{L}$   $\text{HNO}_3$  te dopuniti do oznake ultračistom vodom.

*Bazna otopina olova 1 mg/L :*

Otpipetirati 100  $\mu\text{L}$  standarda olova za AAS (1000 mg/L) u odmjernu tikvicu od 100 mL te dopuniti do oznake ultračistom vodom.

*Standardne otopine olova 1  $\mu\text{g/L}$ , 5  $\mu\text{g/L}$ , 10  $\mu\text{g/L}$ , 15  $\mu\text{g/L}$  i 20  $\mu\text{g/L}$ :*

Otpipetirati 100, 500, 1000, 1500 i 2000  $\mu\text{L}$  bazne otopine olova 1 mg/L u pet odmjernih tikvica od 100 mL, dodati 200  $\mu\text{L}$   $\text{HNO}_3$  te dopuniti do oznake ultračistom vodom.





*Bazna otopina arsena 1 mg/L:*

Otpipetirati 100  $\mu$ L standarda arsena za AAS (1000 mg/L) u odmjernu tikvicu od 100 ml te dopuniti do oznake ultračistom vodom.

*Standardne otopine arsena 1  $\mu$ g/L, 5  $\mu$ g/L, 10  $\mu$ g/L, 15  $\mu$ g/L i 20  $\mu$ g/L:*

Otpipetirati 100, 500, 1000, 1500 i 2000  $\mu$ L bazne otopine arsena 1mg/L u pet odmjernih tikvica od 100 mL, dodati 200  $\mu$ L HNO<sub>3</sub> te dopuniti do oznake ultračistom vodom.

*Bazna otopina selena 1 mg/L:*

Otpipetirati 100  $\mu$ L standarda selena za AAS (1000 mg/L) u odmjernu tikvicu od 100 ml te dopuniti do oznake ultračistom vodom.

*Standardne otopine selena 1  $\mu$ g/L, 10  $\mu$ g/L, 20  $\mu$ g/L i 50  $\mu$ g/L:*

Otpipetirati 100, 1000, 2000 i 5000  $\mu$ L bazne otopine selena 1mg/L u pet odmjernih tikvica od 100 mL, dodati 200  $\mu$ L HNO<sub>3</sub> te dopuniti do oznake ultračistom vodom.

Modifikator matrice koji se koristi prilikom određivanja kadmija i selena je 0,05 % Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> i 0,04 % Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, a priprema se na slijedeći način: otpipetirati 2,5 mL Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 10 000 mg/L i 2,0 mL Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 10 000 mg/L u odmjernu tikvicu od 50 mL te dopuniti ultračistom vodom do oznake.

Modifikator matrice koji se koristi prilikom određivanja olova je 0,1 % Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> i 0,06 % Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, a priprema se na slijedeći način: otpipetirati 5,0 mL Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 10 000 mg/L i 3,0 mL Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 10 000 mg/L u odmjernu tikvicu od 50 mL te dopuniti ultračistom vodom do oznake.



## 2.1.4.2. Standardne otopine i otopine za ICP OES

*Bazna otopina selena 10 mg/L:*

Otpipetirati 1 mL standarda selena (1000 mg/L) u odmjernu tikvicu od 100 mL te dopuniti do oznake ultračistom vodom.

*Standardne otopine selena 500 µg/L, 1000 µg/L, 2000 µg/L i 5000 µg/L:*

Otpipetirati 5 mL bazne otopine selena 10 mg/L u odmjernu tikvicu od 100 mL, dodati 10 mL HNO<sub>3</sub> te dopuniti do oznake ultračistom vodom. Otpipetirati 100, 200 i 500 µL standarda selena (1000 mg/L) u tikvice od 100 mL, dodati 10 mL HNO<sub>3</sub> te dopuniti do oznake ultračistom vodom.

## 2.1.4.3. Standardne otopine i otopine za FIMS (sistem za analizu žive injektiranjem)

Za kalibriranje instrumenta potrebno je pripremiti otopine standarda za živu kao što slijedi:

*Bazna otopina žive 1 mg/L :*

Otpipetirati 100 µL standarda žive (1000 mg/L) u odmjernu tikvicu od 100 mL te dopuniti do oznake ultračistom vodom.

*Standardne otopine žive 1 µg/L, 5 µg/L, 10 µg/L, 20 µg/L i 50 µg/L:*

Otpipetirati 100, 500, 1000, 2000 i 5000 µL bazne otopine žive 1 mg/L u pet odmjernih tikvica od 100 mL, dodati 3 mL HCl te dopuniti do oznake ultračistom vodom.



## *Priprema reducensa:*

Reducens za određivanje žive je  $\text{NaBH}_4$  i dodaje se kako bi se živa reducirala i stvorila metalni hidrid. Priprema se na slijedeći način: odvagati 0,5 g  $\text{NaBH}_4$  i 2 g NaOH u odmjernu tikvicu od 1000 mL te razrijediti ultračistom vodom do oznake.

## *Priprema nosioca (carrier):*

Nosioc za određivanje žive FIAS tehnikom je 3% HCl. Priređuje se na slijedeći način: menzutom odmjeriti 60 mL koncentrirane HCl te dodati u tikvicu od 2000 mL na pola napunjenom ultračistom vodom. Razrijediti ultračistom vodom do oznake.

## **2.2. METODE**

### **2.2.1. Priprema uzoraka**

#### Homogenizacija uzoraka

Uzorci mišićnog tkiva, jetre, bubrega, pluća, slezene, masnog tkiva i kože se usitne homogenizatorom.

#### Vaganje uzoraka

Važe se 0,5 g homogeniziranog uzorka u teflonske posudice uz dodatak 2 mL vodik peroksida i 4 mL nitratne kiseline.



### Mikrovalna razgradnja uzoraka

Rotor MW pećnice ima 16 posuda u kojoj se vrši mikrovalna razgradnja uzoraka. Kontrola mikrovalnog spaljivanja vrši se slijepom probom, CRM-om (certificiranim referentnim materijalom), te kontrolom ponovljivosti. Raspored uzoraka u rotoru je:

- Slijepa proba reagensa
- CRM
- CRM (duplikat)
- 4-16 uzorci

Posudice se dobro zatvore, stave u MW peć na program CRM (Tablica 5).

**Tablica 5:** Program mikrovalne razgradnje uzoraka

<b>Korak</b>	<b>Snaga</b>	<b>Vrijeme postizanja zadane snage (min)</b>	<b>Zadržavanje (min)</b>	<b>Brzina ventilatora</b>
<b>1</b>	500	01:00	04:00	1
<b>2</b>	1000	05:00	05:00	1
<b>3</b>	1400	05:00	10:00	1
<b>4</b>	0		15:00	3

Nakon mikrovalne digestije i hlađenja sadržaj uzoraka se kvantitativno prenosi u odmjerne tikvice od 50 mL za sve matrice uz ispiranje sadržaja ultračistom vodom kako bi gubitci analita bili što manji.

### Pranje posudica i čepova za mikrovalnu razgradnju

Teflonske posudice se ispiru:

1. 3% nitratnom kiselinom
2. dva puta deioniziranom vodom



3. acetonom
4. dva puta deioniziranom vodom
5. sušenje

#### Program za čišćenje teflonskih posudica

Nakon svake digestije uzoraka slijedi program čišćenja (*Cleaning*) posudica za razgradnju kako bi se izbjegla njihova kontaminacija. U prazne teflonske posudice otpipetira se 8 mL nitratne kiseline i 2 mL vode prema dolje navedenom programu. Nakon toga se posudice prazne te slijedi još jedan krug čišćenja, također po istom programu (Tablica 6).

**Tablica 6:** Program čišćenja teflonskih posudica u mikrovalnoj pećnici

Korak	Snaga	Vrijeme postizanja zadane snage (min)	Zadržavanje (min)	Brzina ventilatora
1	1200	5	15:00	1
2	0	-	15:00	3

#### Kontrola čistoće posudica za mikrovalnu razgradnju

Kontrola čistoće teflonskih posudica vrši se u svakoj seriji spaljivanja uzoraka u jednoj nasumično odabranoj posudici u koju se dodaju samo kemikalije bez uzorka (slijepa proba reagens- sp reagens). Prije analize uzoraka analizira se sp reagens i ako je koncentracija ispitivanog analita u posudici manja od LOQ (limita kvantifikacije) tada je i čistoća posudica odgovarajuća. Ukoliko je vrijednost sp reagens veća od LOQ svi uzorci mineralizirani u tom ciklusu nisu prihvatljivi za analizu. U takvom slučaju sve posudice se ponovno čiste po programu *Cleaning*, a uzorci se iznova važu i mineraliziraju po gore navedenom postupku.



## **2.2.1.1. Određivanje metala atomskom apsorpcijskom spektrometrijom (AAS)**

Princip određivanja metala temelji se na kvantificiranju uzoraka pripremljenih mokrim spaljivanjem pomoću uređaja za mikrovalnu razgradnju Multiwave 3000, Anton Paar. Tako pripremljeni uzorak atomizira se u grafitnoj kivetu, a na temelju apsorpcije svjetla na odgovarajućoj valnoj duljini određuje se koncentracija metala u uzorku. Proporcionalno porastu broja atoma raste i količina svjetla apsorbirana od strane atoma, a mjereći količinu apsorbiranog svjetla moguće je odrediti količinu metala u uzorku.

## **2.2.1.2. Određivanje kadmija atomskom apsorpcijskom spektrometrijom**

### *Kalibracija instrumenta*

Na početku mjerenja koncentracija kadmija u uzorcima potrebno je izvršiti kalibraciju. Kalibraciju vrši instrument u četiri točke iz dvije standardne otopine 1  $\mu\text{g/L}$  i 5  $\mu\text{g/L}$ . Točke kalibracije su: 0,2  $\mu\text{g/L}$ , 0,5  $\mu\text{g/L}$ , 1  $\mu\text{g/L}$  i 5  $\mu\text{g/L}$ . Svaka točka očitava se u tri replike iz kojih se uzima srednja vrijednost. Minimalni broj točaka na kalibracijskom pravcu je četiri, a koef. korelacije mora biti  $\geq 0,995$ . U slučaju da se uzorci ostavljaju preko noći ili bez konstantnog nadzora, svakih 20 uzoraka vrši se reslope (provjera nagiba kalibracijskog pravca) kalibracijske krivulje s koncentracijom standardne otopine od 1  $\mu\text{g/L}$ .

### *Uvjeti određivanja kadmija*

Instrument za određivanje kadmija je atomski apsorpcijski spektrofotometar s grafitnom pećnicom i autosamplerom.



Parametri rada:

<i>parametar mjerenja:</i>	<i>apsorbancija</i>
<i>valna duljina:</i>	<i>228,8 nm</i>
<i>temperatura pirolize:</i>	<i>700 °C</i>
<i>temperatura atomizacije:</i>	<i>1550 °C</i>
<i>otvor pukotine monokromatora:</i>	<i>0,7 nm</i>
<i>volumen injektiranja:</i>	<i>20 µL</i>
<i>način mjerenja:</i>	<i>površina pika</i>
<i>područje linearnosti:</i>	<i>0.2-5 µg/L</i>
<i>lampa:</i>	<i>EDL</i>
<i>Kiveta:</i>	<i>široka</i>

Temperaturni program grafitne pećice za analizu kadmija prikazan je u Tablici 7.

**Tablica 7:** Temperaturni program grafitne pećice kod određivanja kadmija

<b>Korak</b>	<b>Temp.(°C)</b>	<b>Vrijeme (s) potrebno za postizanje T</b>	<b>Vrijeme (s) zadržavanja</b>	<b>Protok argona</b>
1	110	1	30	250
2	130	15	30	250
3	700	10	20	250
4	1550	0	5	0
5	2450	1	3	250



## *Mjerenje*

Razgrađene otopine se slažu u AS instrumenta u za to odgovarajuće polipropilenske kivete nakon čega slijedi analiza. Redosljije očitavanja uzoraka iz odabranog SIF-a (podatci o uzorcima- broj uzorka, odvaga, volumen razrjeđenja, mjerna jedinica): sp reagensa → CRM → uzorci → CRM (duplikat) → uzorci → CRM → CRM (duplikat)

## *Izračun rezultata*

Izračun rezultata se obavlja pomoću formule:

$$C = (c \times V)/m$$

Gdje je:

C- koncentracija olova u uzorku izražena u ng/g

c – koncentracija olova u 20 μL izražena u μg/L

V- volumen uzorka izražena u mL

m – masa uzorka izražena u g





### 2.2.1.3. Određivanje olova atomskom apsorpcijskom spektrometrijom

#### *Kalibracija instrumenta*

Na početku mjerenja koncentracija olova u uzorcima potrebno je izvršiti kalibraciju. Kalibraciju vrši instrument u pet točaka. Točke kalibracije su: 1 µg/L, 5 µg/L, 10 µg/L, 15 µg/L, 20 µg/L. Svaka točka očitava se u tri replike iz kojih se uzima srednja vrijednost. Minimalni broj točaka na kalibracijskom pravcu je četiri, a koef. korelacije  $\geq 0,995$ . U slučaju da se uzorci ostavljaju preko noći ili bez konstantnog nadzora svakih 20 uzoraka vrši se reslope (provjera nagiba kalibracijskog pravca) kalibracijske krivulje s koncentracijom standardne otopine od 10 µg/L.

#### *Uvjeti određivanja olova*

Instrument za određivanje olova je atomski apsorpcijski spektrofotometar s grafitnom pećnicom i autosamplerom.

#### Parametri rada:

<i>parametar mjerenja:</i>	<i>apsorbancija</i>
<i>valna duljina:</i>	<i>283,3 nm</i>
<i>temperatura pirolize:</i>	<i>1000 °C</i>
<i>temperatura atomizacije:</i>	<i>1850 °C</i>
<i>otvor pukotine monokromatora:</i>	<i>0,7 nm</i>
<i>volumen injektiranja:</i>	<i>20 µL</i>
<i>način mjerenja:</i>	<i>površina pika</i>



*područje linearnosti:* 1-20  $\mu\text{g/L}$

*lampa:* EDL

*Kiveta:* end cap

Temperaturni program grafitne pećice za analizu olova prikazan je u Tablici 8.

**Tablica 8:** Temperaturni program grafitne pećice kod određivanja olova

Korak	Temp.(°C)	Vrijeme (s) potrebno za postizanje T	Vrijeme (s) zadržavanja	Protok argona
1	110	1	30	250
2	130	15	30	250
3	900	10	20	250
4	1850	0	5	0
5	2450	1	3	250

### *Mjerenje*

Razgrađene otopine se slažu u AS instrument u za to odgovarajuće polipropilenske kivete, te se analiziraju. Redoslijede očitavanja uzoraka iz odabranog SIF-a: sp reagensa → CRM → uzorci → CRM (duplikat) → uzorci → CRM → CRM (duplikat)

### *Izračun rezultata*

Izračun rezultata se obavlja pomoću formule opisane kod Cd.



#### 2.2.1.4. Određivanje arsena atomskom apsorpcijskom spektrometrijom

##### *Kalibracija instrumenta*

Na početku mjerenja koncentracija arsena u uzorcima potrebno je izvršiti kalibraciju. Kalibraciju vrši instrument u pet točaka. Točke kalibracije su: 1 µg/L, 5 µg/L, 10 µg/L, 15 µg/L, 20 µg/L. Svaka točka očitava se u tri replike iz kojih se uzima srednja vrijednost. Minimalni broj točaka na kalibracijskom pravcu je četiri, a koef. korelacije  $\geq 0,995$ . U slučaju da se uzorci ostavljaju preko noći ili bez konstantnog nadzora svakih 20 uzoraka vrši se reslope kalibracijske krivulje s koncentracijom standardne otopine od 10 µg/L.

##### *Uvjeti određivanja arsena*

Instrument za određivanje arsena je atomski apsorpcijski spektrofotometar s grafitnom pećnicom i autosamplrom.

##### Parametri rada:

<i>parametar mjerenja:</i>	<i>apsorbancija</i>
<i>valna duljina:</i>	<i>193,7 nm</i>
<i>temperatura pirolize:</i>	<i>1100 °C</i>
<i>temperatura atomizacije:</i>	<i>2000 °C</i>
<i>otvor pukotine monokromatora:</i>	<i>0,7 nm</i>
<i>volumen injektiranja:</i>	<i>20 µL</i>
<i>način mjerenja:</i>	<i>površina pika</i>



*područje linearnosti:* 2-20  $\mu\text{g/L}$

*lampa:* EDL

*Kiveta:* end cup

Temperaturni program grafitne pećice za analizu arsena prikazano je u Tablici 9.

**Tablica 9:** Temperaturni program grafitne pećice kod određivanja arsena

Korak	Temp.(°C)	Vrijeme (s) potrebno za postizanje T	Vrijeme (s) zadržavanja	Protok argona
1	110	1	30	250
2	130	15	30	250
3	1100	10	20	250
4	2000	0	5	0
5	2450	1	3	250

### *Mjerenje*

Razgrađene otopine se slažu u AS instrument u za to odgovarajuće polipropilenske kivete, te se analiziraju. Redoslijede očitavanja uzoraka iz odabranog SIF-a: sp reagensa → CRM → uzorci → CRM (duplikat) → uzorc → CRM → CRM (duplikat)

### *Izračun rezultata*

Izračun rezultata se obavlja pomoću formule opisane kod Cd.



### 2.2.1.5. Određivanje selena atomskom apsorpcijskom spektrometrijom

#### *Kalibracija instrumenta*

Na početku mjerenja koncentracija selena u uzorcima potrebno je izvršiti kalibraciju. Kalibraciju vrši instrument u četiri točke. Točke kalibracije su: 1  $\mu\text{g/L}$ , 10  $\mu\text{g/L}$ , 20  $\mu\text{g/L}$  i 50  $\mu\text{g/L}$ . Svaka točka očitava se u tri replike iz kojih se uzima srednja vrijednost. Minimalni broj točaka na kalibracijskom pravcu je četiri, a koef. korelacije  $\geq 0,995$ . U slučaju da se uzorci ostavljaju preko noći ili bez konstantnog nadzora svakih 20 uzoraka vrši se reslope kalibracijske krivulje s koncentracijom standardne otopine od 20  $\mu\text{g/L}$ .

#### *Uvjeti određivanja selena*

Instrument za određivanje selena je atomski apsorpcijski spektrofotometar s grafitnom pećnicom i autosamplrom.

#### Parametri rada:

<i>parametar mjerenja:</i>	<i>apsorbancija</i>
<i>valna duljina:</i>	<i>196,0 nm</i>
<i>temperatura pirolize:</i>	<i>1300 °C</i>
<i>temperatura atomizacije:</i>	<i>1900 °C</i>
<i>otvor pukotine monokromatora:</i>	<i>0,7 nm</i>
<i>volumen injektiranja:</i>	<i>20 <math>\mu\text{L}</math></i>
<i>način mjerenja:</i>	<i>površina pika</i>
<i>područje linearnosti:</i>	<i>1-50 <math>\mu\text{g/L}</math></i>



*lampa:* EDL

*Kiveta:* end cup

Temperaturni program grafitne pećice za analizu selena prikazani su u Tablici 10.

**Tablica 10:** Temperaturni program grafitne pećice kod određivanja selena

Korak	Temp.(°C)	Vrijeme (s) potrebno za postizanje T	Vrijeme (s) zadržavanja	Protok argona
1	110	1	30	250
2	130	15	30	250
3	1300	10	20	250
4	1900	0	5	0
5	2450	1	3	250

### *Mjerenje*

Razgrađene otopine se slažu u AS instrument u za to odgovarajuće polipropilenske kivete, te se analiziraju. Redoslijede očitavanja uzoraka iz odabranog SIF-a: sp reagensa → CRM → uzorci → CRM (duplikat) → uzorci → CRM → CRM (duplikat)

### *Izračun rezultata*

Izračun rezultata se obavlja pomoću formule opisane kod Cd.



## 2.2.2. Određivanje selena induktivno spregnutom plazmom - optičkom emisijskom spektrometrijom (ICP- OES)

Induktivno spregnuta plazma (ICP) je struja visoko ioniziranog argona koji prolazi kroz magnetno polje zavojnice. Visoko frekventno magnetno polje ionizira argon, koji je inertni plin i formira se plazma. Plazma razvija temperature od 8000 – 10000 K što omogućuje determinaciju oko 75 elemenata iz periodnog sustava.

Tehnika koju ICP koristi za mjerenje selena u uzorcima je optička emisijska spektrofotometrija (OES) tj. aparat radi na principu emisije. Kada uzorak uvodimo u plazmu koja razvija visoku temperaturu dolazi do prelaza elektrona u pobuđeno stanje. Prilikom vraćanja u osnovno stanje dolazi do emitiranja svjetlosti određene valne duljine koja se mjeri na detektoru. Da bi se uzorak uveo u plazmu prvo se mora raspršiti u ciklonskoj komori za raspršivanje pomoću raspršivača, u ovom slučaju Meinhard.

Plinove koje ICP koristi su argon, dušik i komprimirani zrak. Argon služi za formiranje plazme i čišćenje sistema od nečistoća prilikom pokretanja aparata dok dušik služi za čišćenje optičkih dijelova uređaja. Komprimirani zrak uklanja rep plazme i tako štiti optičke dijelove od uništenja.

### *Kalibracija instrumenta*

Na početku mjerenja koncentracija selena u uzorcima potrebno je izvršiti kalibraciju. Kalibraciju vrši instrument u četiri točke. Točke kalibracije su: 0,5 mg/L, 1 mg/L, 2 mg/L i 5 mg/L. Svaka točka očitava se u tri replike iz kojih se uzima srednja vrijednost mjerenja. Minimalni broj točaka na kalibracijskom pravcu je četiri, a koef. korelacije  $\geq 0,995$ .



## *Uvjeti određivanja selena*

Instrument za određivanje selena je induktivno spregnuta plazma - optičke emisijske spektrometrije s autosamplerom, aluminijskim injektorom, ciklonskom komorom za raspršivanje i Meinhardovim raspršivačem.

### Parametri rada:

<i>Parametar mjerenja:</i>	<i>intenzitet</i>
<i>Način mjerenja:</i>	<i>površina pika</i>
<i>Valna duljina:</i>	<i>196,026 nm</i>
<i>Vrijeme stabilizacije plazme:</i>	<i>15 sek</i>
<i>Brzina protoka uzorka:</i>	<i>1,5 mL/min</i>
<i>Očitanje:</i>	<i>1-5 sek</i>
<i>Ispitani linearni raspon</i>	<i>0,5-5 mg/L</i>
<i>Protok plazme</i>	<i>8 L/min</i>
<i>Aksilarni protok</i>	<i>0,2 L/min</i>
<i>Protok u raspršivaču</i>	<i>0,4 L/min</i>
<i>Snaga</i>	<i>1450 W</i>
<i>Udaljenost gledanja (view distance)</i>	<i>15,00</i>
<i>Pogled plazme</i>	<i>aksilarni</i>





## *Mjerenje*

Razgrađene otopine se slažu u AS instrument u za to odgovarajuće polipropilenske epruvete od 15 mL, te se analiziraju. Redoslje očitavanja uzoraka iz odabranog SIF-a: sp reagensa → CRM → CRM (duplikat) → uzorci → CRM → CRM (duplikat)

## *Izračun rezultata*

Izračun rezultata se obavlja pomoću formule opisane kod Cd.

### **2.2.3. Određivanje žive FIMS sustav (sistem za analizu žive injektiranjem)**

Princip određivanja žive temelji se na njezinoj sposobnosti tvorbe metalnih hidrida, a sama živa određuje se tehnikom injektiranja protočnom analizom (*Flow injection*). Uzorak s reducensom stvara pare metalnog hidrida koje dolaze na staklenu ćeliju kroz koju prolazi svjetlost određene valne duljine. Na temelju apsorpcije svjetla određuje se koncentracija žive u uzorku. Proporcionalno porastu broja atoma raste i količina svjetla apsorbirana od strane atoma, a mjereći količinu apsorbiranog svjetla moguće je odrediti količinu žive u uzorku.

## *Kalibracija instrumenta*

Na početku mjerenja koncentracija žive u uzorcima potrebno je izvršiti kalibraciju. Kalibraciju vrši instrument u pet točaka. Točke kalibracije su: 1 µg/L, 5 µg/L, 10 µg/L, 20 µg/L i 50 µg/L. Svaka točka očitava se u tri replike iz kojih se uzima srednja vrijednost. Minimalni broj točaka na kalibracijskom pravcu je četiri, a koef. korelacije  $\geq 0,995$ .



## *Uvjeti određivanja žive*

Instrument za određivanje žive je FIMS sustav sa staklenom ćelijom i autosamplerom.

### Parametri rada:

<i>parametar mjerenja:</i>	<i>apsorbancija</i>
<i>valna duljina:</i>	<i>253,7 nm</i>
<i>temperatura ćelije:</i>	<i>100 °C</i>
<i>volumen uzorka :</i>	<i>500 µL</i>
<i>otvor pukotine monokromatora:</i>	<i>0,7 nm</i>
<i>način mjerenja:</i>	<i>visina pika</i>
<i>područje linearnosti:</i>	<i>1 – 50 µg/L</i>
<i>lampa:</i>	<i>EDL</i>

Temperaturni program FIMS ćelije za analizu žive nalaze se u Tablici 11.

**Tablica 11:** Temperaturni program FIMS ćelije kod određivanja žive

<b>Korak</b>	<b>Vrijeme (s)</b>	<b>Pumpa 1 (brzina)</b>	<b>Pumpa 2 (brzina)</b>	<b>Pozicija ventila</b>
Predpunjenje	15	100	120	Punjenje Punjenje Injektiranje Punjenje
1	10	100	120	
2	18	0	120	
3	0	0	0	



## *Mjerenje*

Razgrađene otopine se slažu u AS instrument u za to odgovarajuće polipropilenske epruvete od 50 mL, te se analiziraju. Redosljive očitavanja uzoraka iz odabranog SIF-a: sp reagensa → CRM → CRM (duplikat) → uzorci → CRM → CRM (duplikat)

## *Izračun rezultata*

Izračun rezultata se obavlja pomoću formule opisane kod Cd.

### **2.2.4. Kontrola kvalitete rezultata analize**

Kontrola kvalitete rezultata analize vrši se:

- *Kontrolom slijepih proba (sp reagens)*
- *Kontrolnim kartama pomoću obogaćenih uzoraka ili CRM-a*
- *Korekcijom kalibracijske krivulje*

## *Kontrola slijepih proba*

Slijepu probu kontroliramo kako bi provjerili eventualne kontaminacije koje mogu uslijediti tijekom procesa zbog nečistog posuđa, kemikalija i sl. Prije kreiranja SIF-a provjere se slijepa probe reagensa svih serija razgrađenih uzoraka koje se ispituju. Ako slijepa proba reagensa određene serije uzoraka ne odgovara zadanom kriteriju (mora biti ispod limita kvantifikacije, LOQ) svi uzorci te serije spaljivanja se isključuju iz postupka te se provodi čišćenje posudica prema programu u biblioteci MW. Na početku analize uzoraka koristi se mješavina sp reagensa svih serija koje su zadovoljile kriterij ( $sp < LOQ$ ).



## *Kontrolne karte obogaćenih uzoraka ili CRM-a (certificiranog referentnog materijala)*

Kontrola procesa vrši se svaki put kod analize uzoraka. U slučaju ako se analize ne izvode određeni period vremena ne treba se vršiti ni kontrola procesa. Negativni uzorak se obogaćuje na NDK (najviša dozvoljena koncentracija) vrijednost. Dobivene vrijednosti se unose u kontrolne karte čiji su kriteriji određeni validacijom metode. Ukoliko negativni uzorci nisu dostupni koristi se CRM prikladne matrice i koncentracija. Korišteni CRM u radu su: DORM-4 i DOLT-4. U Tablici 11 navedeni su dobiveni rezultati.

**Tablica 11:** Dobivene vrijednosti CRM materijala

		<b>Certificirana vrijednost (mg/kg)</b>	<b>Dobivena vrijednost (mg/kg)</b>
DORM-4	As	6,8±0,64	6,44
	Cd	0,306±0,015	0,320
	Pb	0,416±0,053	0,442
	Hg	0,410±0,055	0,411
	Se	3,56±0,34	3,70
DOLT-4	As	9,66±0,62	9,05
	Cd	24,3±0,8	24,50
	Pb	0,16±0,04	0,17
	Hg	2,58±0,22	2,57
	Se	8,33±1,3	8,55

## *Korekcija kalibracijske krivulje*

U slučaju da se uzorci ostavljaju preko noći ili bez konstantnog nadzora svakih 20 uzoraka vrši se ponavljanje mjerenja kalibracijske standardne otopine koja se nalazi na polovini kalibracijske krivulje. Pomoću te vrijednosti vrši se korekcija kalibracije.



## 2.2.5. Statistička obrada podataka

Statistička obrada podataka obavljena je programom Stata 13.1 (Stat Corp. USA). Rezultati su prikazani kao medijan, minimalna i maksimalna vrijednost ili kao aritmetička sredina s pripadajućom standardnom devijacijom, ovisno o razdiobi podataka. Vrijednosti su međusobno uspoređene  $t$ -testom ili testom za neparametrijske vrijednosti (Man Whitney test). Za usporedbu vrijednosti više od dviju skupina korišten je Kruskal-Wallis test ili analiza varijance, ovisno o razdiobi podataka. Za usporedbu varijabli iskazanih u binarnom obliku (da/ne) korišten je hi-kvadrat ili Fisher exact test. Korelacije između varijabli iskazane su kao Kendall tau b korelacijski koeficijent.

### **3. REZULTATI**



### 3.1. Biološke karakteristike dobrih dupina (*Tursiops truncatus*), plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*) i glavatih dupina (*Grampus griseus*)

U Tablici 15 prikazan je broj ispitivanih dupina u ovom radu obzirom na vrstu i spol. Utjecaj istraživanih parametara je dan Fisherovim egzaktnim testom i njegovom P-vrijednosti.

**Tablica 15:** Broj i spol ispitivanih dupina\*

Vrsta	Mužjaci	Ženke	Ukupno
Dobri dupin ( <i>Tursiops truncatus</i> )	76	79	155
Glavati dupin ( <i>Grampus griseus</i> )	5	1	6
Plavobijeli dupin ( <i>Stenella coeruleoalba</i> )	15	10	25
Ukupno	96	90	186

\*zastupljenost prema spolu: Fisher egzaktni test P=0.178

Ukupno je analizirano 186 dupina. Najveći broj pripada skupini dobrih dupina (*Tursiops truncatus*) (155 jedinki) od čega je 76 mužjaka i 79 ženka. Plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*) ispitano je 25, odnosno 15 mužjaka i 10 ženki. Najmanji broj dupina čine glavati dupini (*Grampus griseus*) ukupnog broja 6 jedinki od čega je 5 mužjaka i jedna ženka.

Razlike u zastupljenosti spolova u tri promatrane vrste dupina nisu bile statistički značajne, odnosno u svih vrsta podjednaka je zastupljenost mužjaka i ženki (Fisher exact P=0,178), što omogućava usporedbu između pojedinih vrsta neovisno o spolu. U preglednom radu O'Shea (1999) zaključuje da u pravilu nema spolnih razlika u akumulaciji elemenata u tragovima kod morskih sisavaca, osim u slučaju graviditeta i laktacije.

Biološki podaci svakog individualnog dupina koji uključuju oznaku dupina, datum pronalaska, vrstu, masu i duljinu tijela, dob, spol i mjesto pronalaska nalaze se u Tablici 4.



Usporedbe mase, dužine tijela i dobi u tri vrste dupina na području hrvatskog dijela Jadranskog mora sumirane su u Tablici 16.

**Tablica 16:** Biološke karakteristike tri vrste ispitivanih dupina podrijetlom s područja hrvatskog dijela Jadranskog mora<sup>o</sup>

Vrsta		Masa (kg)	Dužina (cm)	Dob (godina)
<b>Dobri dupin</b> ( <i>Tursiops truncatus</i> )	N	137	144	142
	SR.V.	149,8±81,08	245,43±55,12	13
	MED	154	260	8.5
	m-M	8 - 324	99 - 322	0,5 - 28
<b>Glavati dupin</b> ( <i>Grampus griseus</i> )	N	5	6	-
	SR.V.	258±45,5	300,17±10,65	-
	MED	268	299.5	-
	m-M	185 - 305	286 - 318	-
<b>Plavobijeli dupin</b> ( <i>Stenella coeruleoalba</i> )	N	25	25	23
	SR.V.	81,2±15,45	191,56±40,32	16
	MED	80	202	17
	m-M	40 - 109	15 - 214	0,5 - 30
<b>Svi</b>	N	167	175	165
	MED	132	246	11
	m-M	8 - 324	15 - 322	0,5 - 30
<b>P (Kruskall-Wallis)</b>		<b>0,0001</b>	<b>0,0001</b>	<b>0,0093</b>

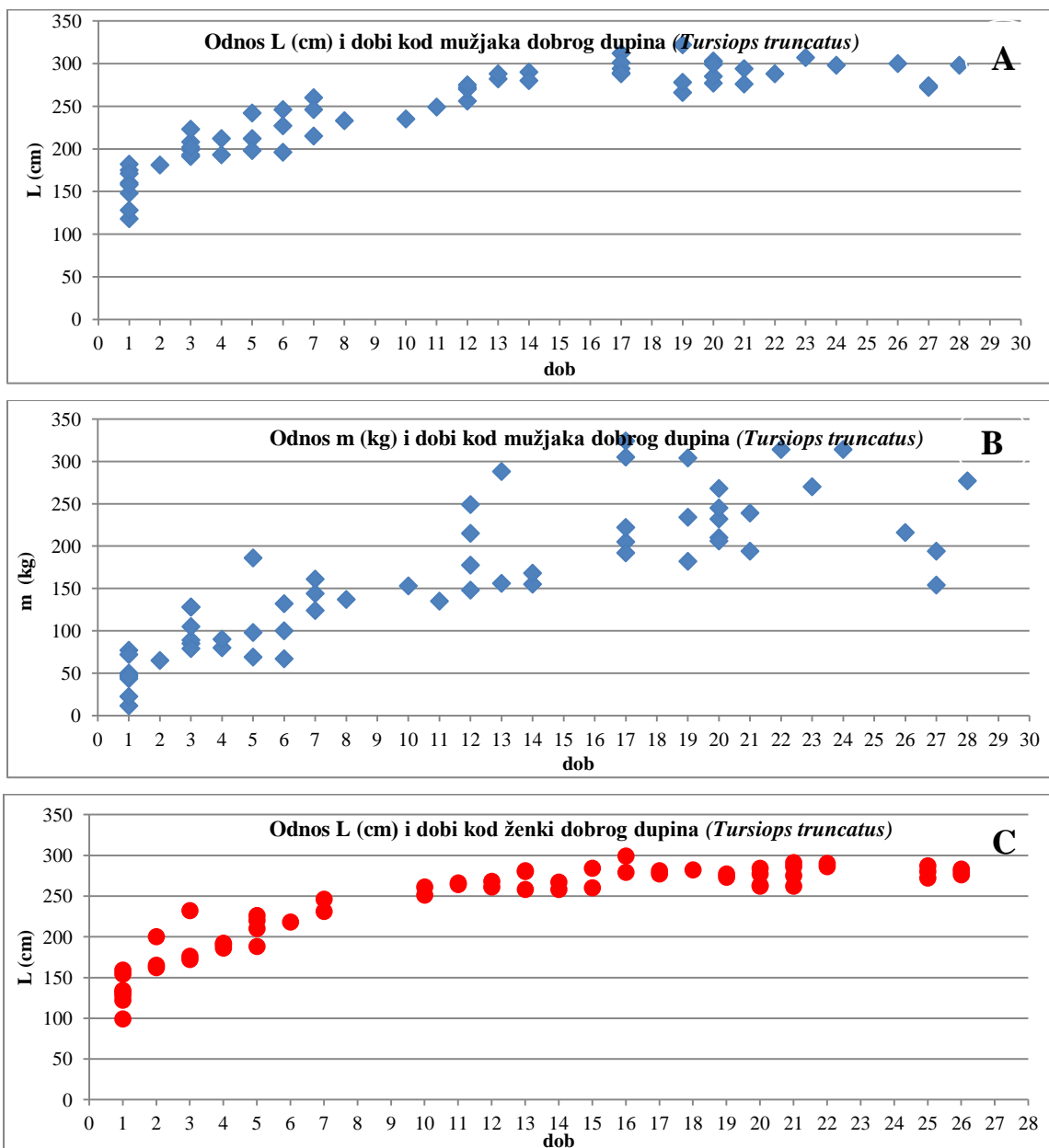
<sup>o</sup> Korišten je neparametrijski Kruskall-Wallis test za utvrđivanje bioloških razlika između tri vrste ispitivanih dupina

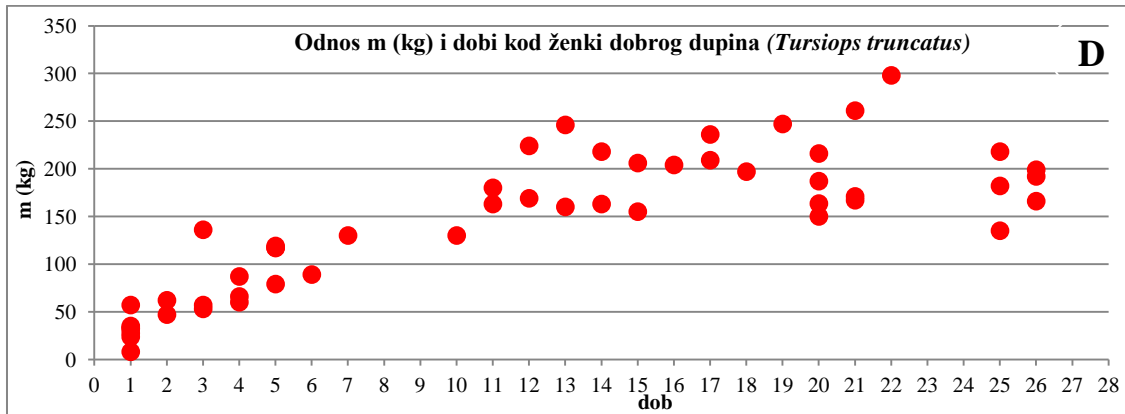
Oznake u Tablici: N- broj jedinki; M-maksimalna vrijednost; m-minimalna vrijednost; MED-median; SR.V.-srednja vrijednost



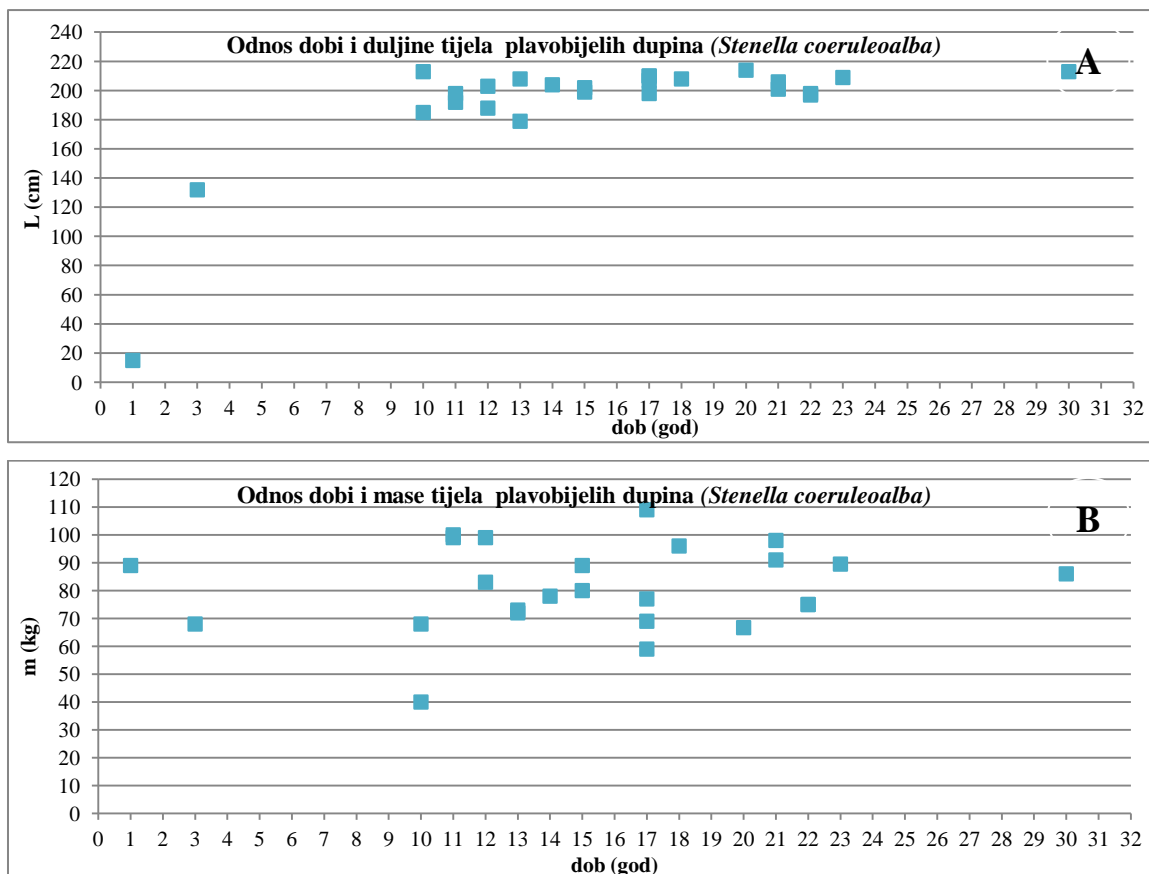


Ispitivani uzorci pripadaju odraslim jedinkama i mladunčadi čija se duljina tijela kretala u rasponu od 15-322 cm, dok je raspon starosti jedinki bio od 0,5-30 godina. Mužjaci dobrih dupina između 11-12 godine prestaju s rastom, a ženke između 10-11 godine. Nakon tog razdoblja duljina tijela ostaje konstantna dok mase tijela variraju (Slika 2 A-D). Jedinke plavobijelih dupina prestaju s rastom u desetoj godini (Slika 3 A i B).





**Slika 2:** Odnosi tjelesne mase i duljine tijela mužjaka (A i B) i ženki (C i D) dobrih dupina (*Tursiops truncatus*) u odnosu na godine i spol



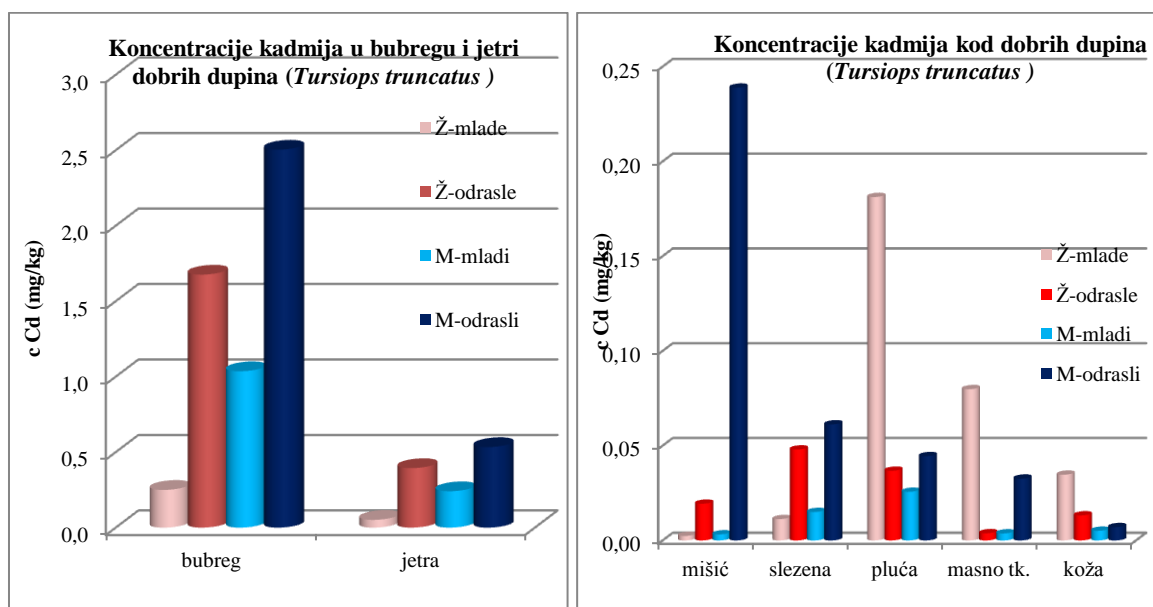
**Slika 3:** Odnosi tjelesne mase i duljine tijela (A i B) plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*) u odnosu na godine i spol



**3.2. Koncentracije kadmija u tkivima dobrih dupina (*Tursiops truncatus*), plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*) i glavatih dupina (*Grampus griseus*)**

Na Slikama 4-6 prikazani su rezultati određivanja koncentracija kadmija u tkivima dobrih dupina (*Tursiops truncatus*), plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*) i glavatih dupina (*Grampus griseus*).

Najviša vrijednost za kadmij u bubregu izmjerena je kod plavobijelog dupina i iznosi 18,509 mg/kg, a za jetru kod glavatog dupina i to 11,848 mg/kg.



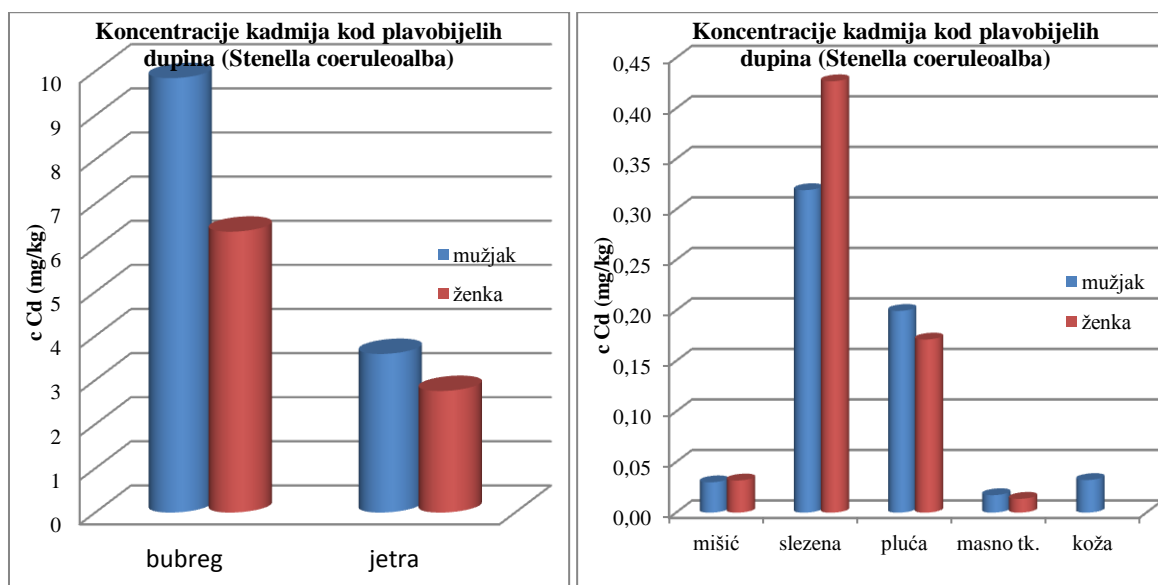
**Slika 4:** Srednje vrijednosti koncentracija kadmija u tkivima dobrog dupina (*Tursiops truncatus*)

Obzirom na tkiva koja su u ovom radu ispitivana utvrđene vrijednosti kadmija kod dobrih dupina najviše su u bubregu. U odraslih mužjaka te koncentracije kadmija više su od onih u odraslih ženki. Također taj trend vrijedi za mladunčad. Iznimka je kod slezene gdje su u odraslih ženki vrijednosti više od onih u odraslih mužjaka. Najviša koncentracija kadmija izmjerena u bubregu dobrog dupina iznosi 14,178 mg/kg, a pripada odraslom mužjaku pronađenom na području Dubrovnika. Poredak ispitivanih tkiva po utvrđenim količinama



kadmija slijedi niz: bubreg, jetra, slezena i pluća. Navedeni poredak vrijedi za sve četiri skupine (ženke/mužjaci – mladi/odrasli) između vrste dobrih dupina. U jednom slučaju u plućima ženke mladunčeta izmjerena je koncentracija kadmija od 5,022 mg/kg što je znatno više od ostalih vrijednosti zbog čega je i srednja koncentracija nerealno visoka ( $0,181 \pm 0,931$  mg/kg). Medijan za koncentraciju kadmija u spomenutom tkivu je 0,005 mg/kg.

U ostalim tkivima (mišić, masno tkivo i koža) koncentracije su niske, najčešće oko granica analitičkih mogućnosti određivanja (0,001 mg/kg). Međutim, u pojedinim jedinkama izmjerene su visoke koncentracije kadmija koje znatno odskakuju od prosječnih vrijednosti. Primjer je koncentracija izmjerena u mišiću dupina pronađenog kod Nina, a iznosi 9,598 mg/kg.

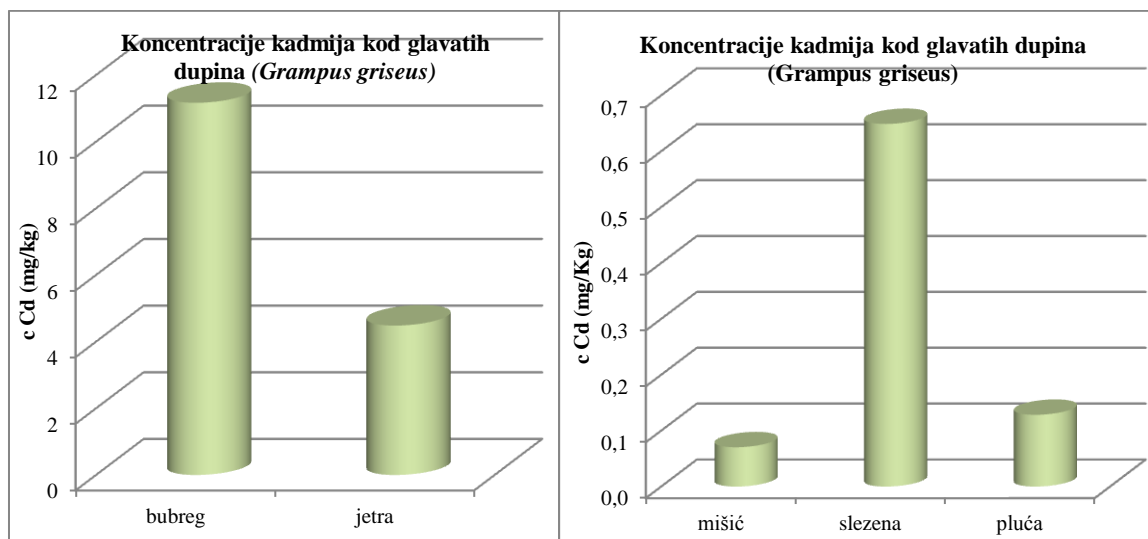


**Slika 5:** Srednje vrijednosti koncentracija kadmija u tkivima plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*)

Koncentracije kadmija u jedinkama vrste plavobijelih dupina također slijede raspored kao kod pripadnika dobrih dupina. I kod ove vrste dupina koncentracije kadmija kod ženki su više u slezeni. Međutim, u svim tkivima su vrijednosti znatno više u odnosu na dobre dupine.



Na primjer, srednja vrijednost kadmija u slezeni odraslog mužjaka plavobijelog dupina je 0,319 mg/kg, a kod dobrog dupina je 0,061 mg/kg.



**Slika 6:** Srednje vrijednosti koncentracija kadmija u tkivima glavatih dupina (*Grampus griseus*)

Raspored kadmija po tkivima također je jednak i kod glavatih dupina. Srednje vrijednosti u svim ispitivanim tkivima su najviše kod ove vrste dupina u odnosu na dobre dupine i plavobijele dupine.

U Tablici 17 prikazane su srednje vrijednosti, mediani te minimalne i maksimalne koncentracije kadmija u tkivima jedinki dobrog dupina, plavobijelog dupina i glavatog dupina. U Prilogu 1 prikazane su srednje vrijednosti, mediani te minimalne i maksimalne koncentracije kadmija u tkivima dupina podijeljenih prema dobnim skupinama i spolu.

Opažene razlike u koncentraciji kadmija u istim tkivima različitih vrsta dupina statistički se razlikuju. Iz tablice je vidljivo da su razlike u koncentracijama kadmija u tkivu kože statistički značajne na nivou  $P < 0,05$ , a u tkivima mišića, bubrega, jetre i slezene razlike su statistički značajne na nivou  $P < 0,001$ .



**Tablica 17:** Sadržaj kadmija u tkivima ispitivanih dupina<sup>o</sup>

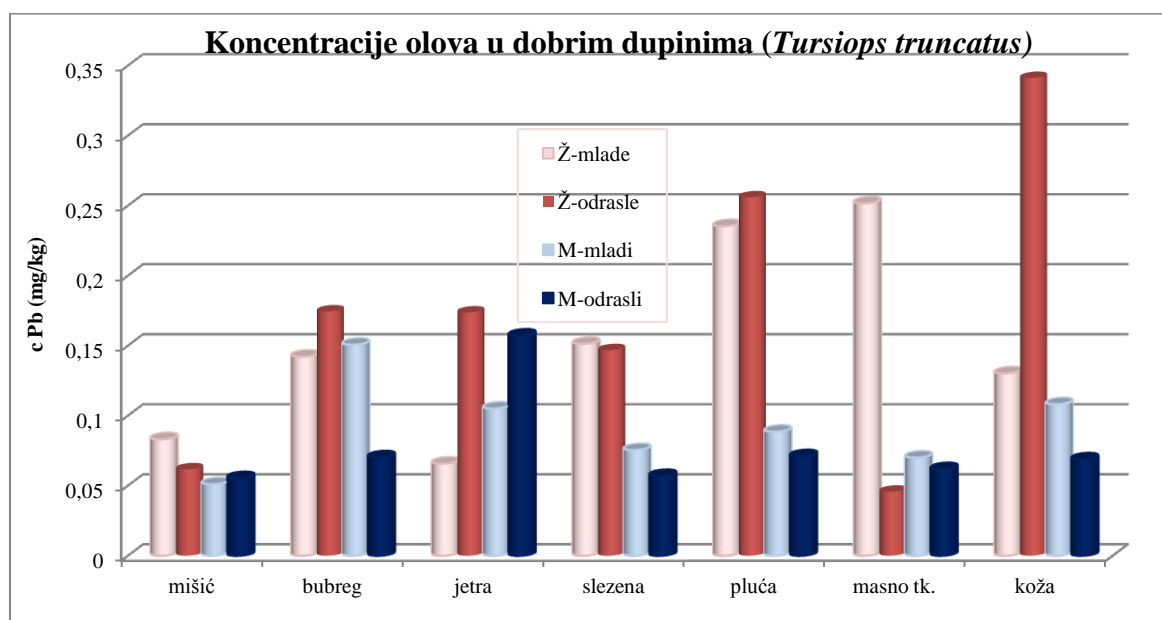
		Mišić	Bubreg	Jetra	Pluća	Masno tkivo	Koža
<b>Dobri dupin</b> ( <i>Tursiops truncatus</i> )	N	150	150	146	143	90	48
	Medijan	0,003	0,865	0,1615	0,019	0,002	0,005
	Min	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
	Max	9,598	14,178	4,482	5,022	1,447	0,277
<b>Glavati dupin</b> ( <i>Grampus griseus</i> )	N	6	6	6	5	0	0
	Medijan	0,0615	13,793	3,8465	0,118	-	-
	Min	0,028	2,803	0,569	0,09	-	-
	Max	0,156	16,821	11,848	0,194	-	-
<b>Plavobijeli dupin</b> ( <i>Stenella coeruleoalba</i> )	N	24	24	24	23	13	4
	Medijan	0,026	8,1195	2,5095	0,15	0,016	0,0335
	Min	0,001	0,271	0,045	0,003	0,001	0,013
	Max	0,14	18,509	9,56	0,581	0,033	0,049
<b>Svi</b>	N	180	180	176	171	103	52
	Medijan	0,005	1,103	0,2245	0,024	0,003	0,0055
	Min	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
	Max	9,598	18,509	11,848	5,022	1,447	0,277
<b>P (Kruskall-Wallis)</b>		<b>0,0001</b>	<b>0,0001</b>	<b>0,0001</b>	<b>0,0001</b>	<b>0,0001</b>	<b>0,0037</b>

<sup>o</sup> Korišten je neparametrijski Kruskall-Wallis test za utvrđivanje razlika u koncentraciji kadmija u tkivima između tri vrste ispitivanih dupina



**3.3. Koncentracije olova u tkivima dobrih dupina (*Tursiops truncatus*), plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*) i glavatih dupina (*Grampus griseus*)**

Na Slikama 7-9 prikazani su rezultati određivanja koncentracija olova u tkivima dobrih dupina (*Tursiops truncatus*), plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*) i glavatih dupina (*Grampus griseus*),

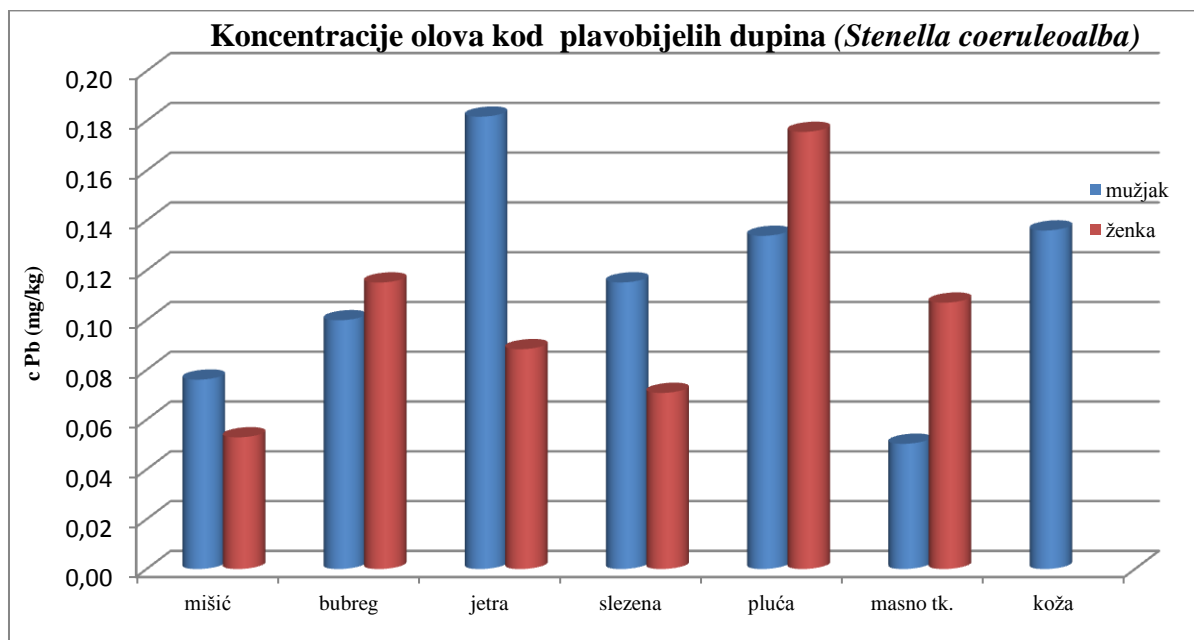


**Slika 7:** Srednje vrijednosti koncentracija olova u tkivima dobrih dupina (*Tursiops truncatus*)

Više od 50 % izmjerenih vrijednosti za ispitivana tkiva u sve tri vrste dupina bile su manje od 0,1 mg/kg. Koncentracije olova najniže su u mišićima i iznose 0,02 mg/kg (medijan) kod sve tri analizirane vrste dupina. Pokazalo se da su najviše koncentracije olova u jetri, a njihov raspon kreće se između 0,01-1,097 mg/kg kod dobrih dupina, median je 0,129 mg/kg za odrasle ženke i 0,096 mg/kg za odrasle mužjake. Niže vrijednosti u jetri pronađene su kod odraslih mužjaka i ženki plavobijelih dupina. Medijan koncentracije u jetri mužjaka plavobijelih dupina iznose 0,067 mg/kg a kod ženki 0,079 mg/kg. Koncentracije u jetri

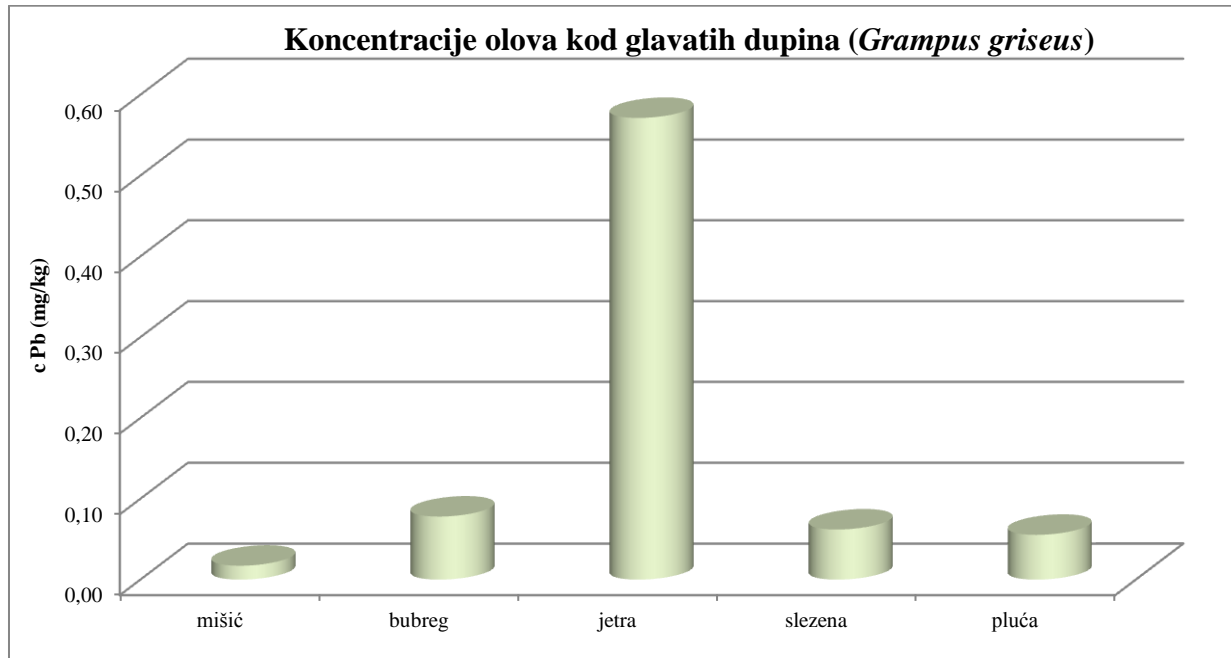


glavatih dupina su puno ujednačenije i medijan vrijednost je viša u odnosu na ostale dvije vrste (0,579 mg/kg). Bubrege je slijedeće tkivo nakon jetre obzirom na sadržaj olova i iako mu je raspon koncentracija veći od jetre (0,01-1,594 mg/kg), median vrijednosti su manje, osim kod mladunčadi dobrih dupina. Kod glavatih dupina medijan koncentracija olova u bubregu iznosi 0,09 mg/kg, dok mužjaka i ženki plavobijelih dupina iznosi 0,06 mg/kg. Odrasli mužjaci i ženke dobrih dupina vrlo malo se razlikuju u vrijednostima olova u bubregu. Vrijednost kod odraslih mužjaka je 0,04 mg/kg a ženki 0,06 mg/kg. U ostalim tkivima za sve tri ispitivane vrste dupina vrijednosti su niske, uz iznimku nekoliko visokih koncentracija u plućima i slezeni dobrih dupina i plavobijelih dupina zbog kojih su srednje vrijednosti znatno više nego medijan. Koncentracije u tkivima glavatih dupina su jednoličnije pa su i srednje vrijednosti sličnije medijanima. U svim tkivima dobrih dupina vrijednosti olova su više u odraslim ženka u odnosu na odrasle mužjake. Kod plavobijelih dupina u plućima i masnom tkivu olovo ima znatno više vrijednosti kod ženki dok su u ostalim tkivima koncentracije približno jednake.



**Slika 8:** Srednje vrijednosti koncentracija olova u tkivima plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*)





**Slika 9:** Srednje vrijednosti koncentracija olova u tkivima glavatih dupina (*Grampus griseus*)

U Tablici 18 prikazane su srednje vrijednosti, mediani te minimalne i maksimalne koncentracije olova u tkivima jedinki dobrog dupina, plavobijelog dupina glavatog dupina. U Prilogu 2 prikazane su srednje vrijednosti, mediani te minimalne i maksimalne koncentracije olova u tkivima dupina podijeljenih prema dobnim skupinama i spolu.

Opažene razlike u koncentraciji olova u jetri različitih vrsta dupina statistički su značajne ( $P=0,0013$ ). Razlike u koncentraciji olova u drugim tkivima nisu statistički značajne ( $P>0,05$ ).


**Tablica 18:** Sadržaj olova u tkivima ispitivanih dupina<sup>o</sup>

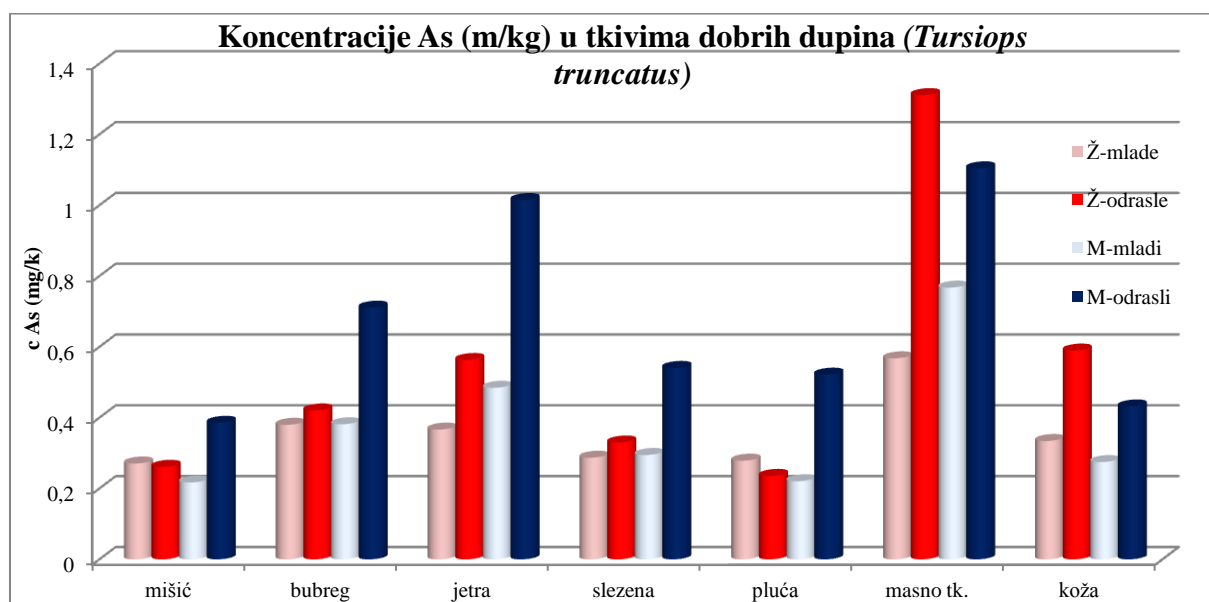
		Mišić	Bubreg	Jetra	slezena	pluća	Masno tkivo	Koža
<b>Dobri dupin</b> <i>(Tursiops truncatus)</i>	N	150	150	146	139	143	90	48
	Medijan	0,016	0,055	0,09	0,034	0,054	0,045	0,03
	Min	0,001	0,01	0,01	0,005	0,003	0,01	0,01
	Max	0,54	1,594	1,097	2,101	67,8	3,927	1,685
<b>Glavati dupin</b> <i>(Grampus griseus)</i>	N	6	6	6	5	5	-	-
	Medijan	0,015	0,088	0,579	0,035	0,057	-	--
	Min	0,01	0,035	0,191	0,01	0,01	-	-
	Max	0,03	0,109	1,146	0,17	0,099	-	-
<b>Plavobijeli dupin</b> <i>(Stenella coeruleoalba)</i>	N	24	24	24	23	23	13	4
	Medijan	0,021	0,059	0,075	0,025	0,049	0,058	0,139
	Min	0,01	0,01	0,034	0,01	0,01	0,013	0,047
	Max	0,689	0,57	1,456	1,474	1,286	0,135	0,219
<b>Svi</b>	N	180	180	176	167	171	103	52
	Medijan	0,018	0,055	0,091	0,03	0,053	0,047	0,042
	Min	0,001	0,01	0,01	0,005	0,003	0,01	0,01
	Max	0,689	1,594	1,456	2,101	67,8	3,927	1,685
<b>P (Kruskall-Wallis)</b>		0,548	0,677	<b>0,0013</b>	0,827	0,933	0,479	0,177

<sup>o</sup> Korišten je neparametrijski Kruskall-Wallis test za utvrđivanje razlika u koncentraciji olova u tkivima između tri vrste ispitivanih dupina



**3.4. Koncentracije arsena u tkivima dobrih dupina (*Tursiops truncatus*), plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*) i glavatih dupina (*Grampus griseus*)**

Na Slikama 10-12 prikazani su rezultati određivanja koncentracija arsena (srednja vrijednost) u tkivima dobrih dupina (*Tursiops truncatus*), plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*) i glavatih dupina (*Grampus griseus*).

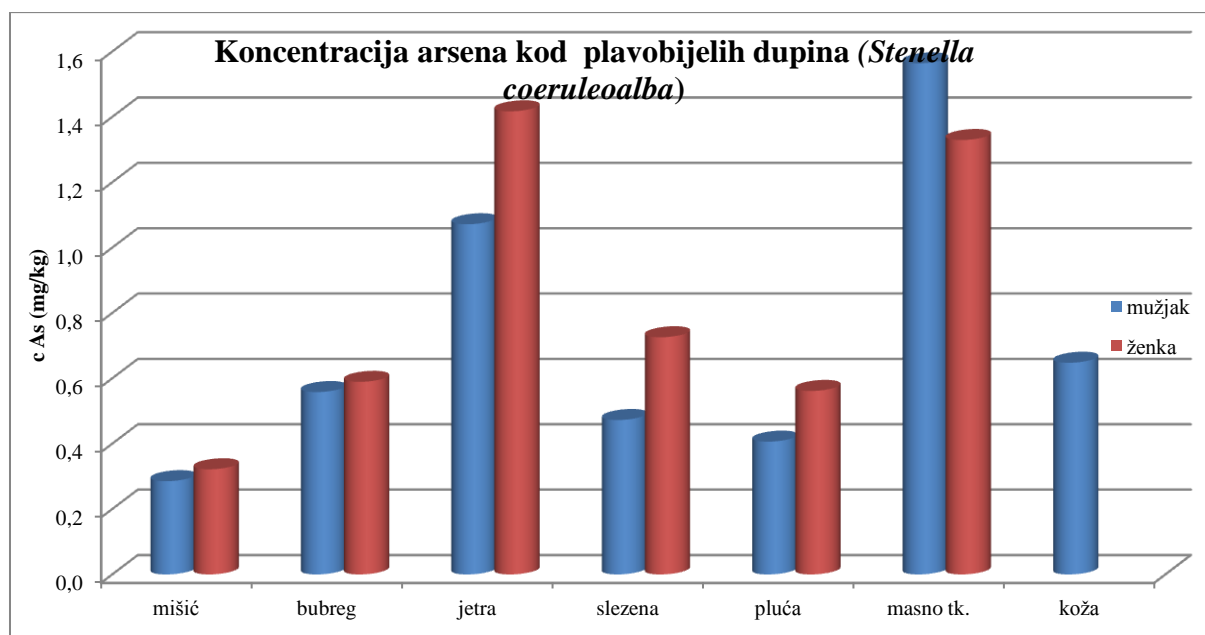


**Slika 10:** Srednje vrijednosti koncentracija arsena u tkivima dobrih dupina (*Tursiops truncatus*)

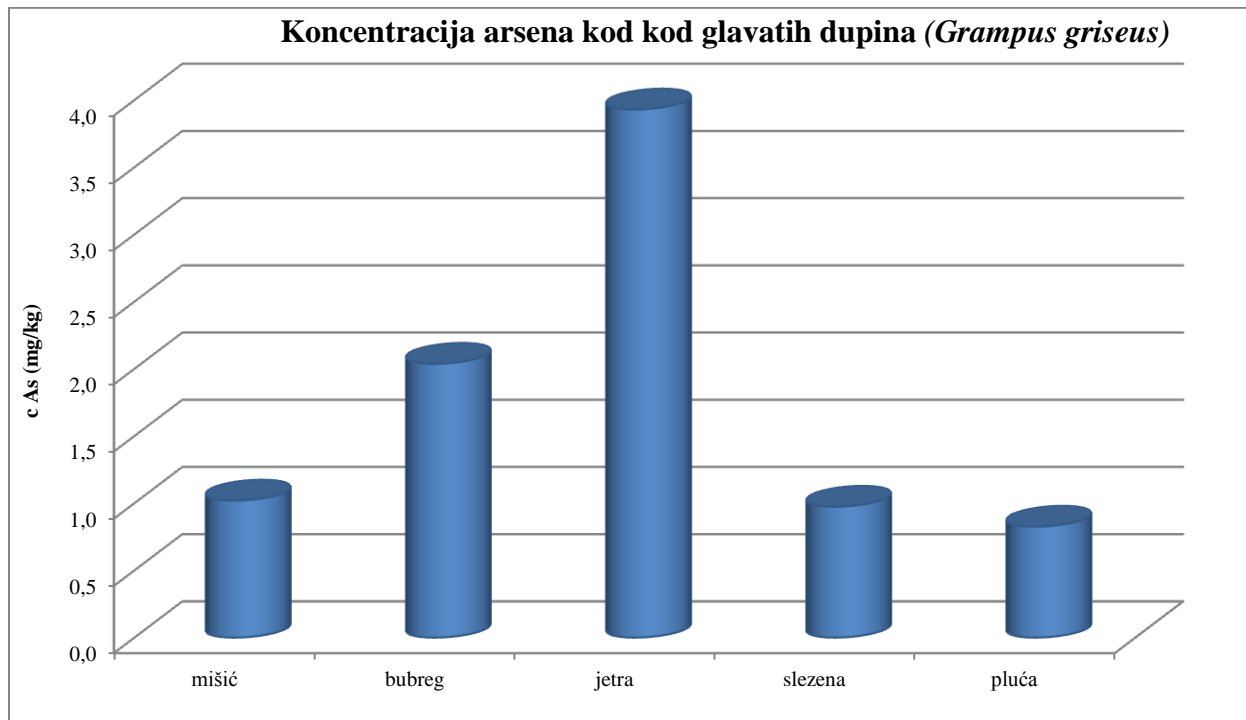
Koncentracije arsena u svim analiziranim tkivima najniže su kod dobrih dupina, zatim kod plavobijelih dupina a najviše kod glavatih dupina. Koncentracije arsena u mišićnom tkivu ne razlikuju se mnogo između dobrih dupina i plavobijelih dupina. Znatno više koncentracije izmjerene su kod glavatih dupina. Najviše koncentracije utvrđene su u masnom tkivu. Medijan vrijednost arsena u masnom tkivu kod odraslih dobrih dupina je 0,889 mg/kg, a kod mužjaka plavobijelih dupina je 1,419 mg/kg. Vrijednosti arsena u tkivima ne prelaze 1 mg/kg kod dobrih i pavobijelih dupina, osim u slučaju masnog tkiva plavobijelih dupina. U jetri,



bubregu i slezeni glavatih dupina vrijednosti su više od 1 mg/kg. Najviše vrijednosti zabilježene su u masnom tkivu obje vrste dupina i iznose 3,939 mg/kg kod odrasle ženke dobrih dupina i 4,06 mg/kg kod odraslog mušjaka pronađenog kod otoka Krka. Masno tkivo glavatih dupina nije bilo dostupno za analizu. Kod dobrih dupina odrasli mušjaci pokazuju najviše median vrijednosti u svim tkivima, osim u koži gdje su najviše vrijednosti zabilježene kod odraslih ženki. Kod plavobijelih dupina rezultati dobiveni mjerenjima su obrnuti, odnosno, ženke pokazuju najviše median vrijednosti u svim tkivima, osim u bubregu i masnom tkivu gdje su najviše vrijednosti zabilježene u mušjaka.



**Slika 11:** Srednje vrijednosti koncentracija arsena u tkivima plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*)



*Slika 12:* Srednje vrijednosti koncentracija arsena u tkivima glavatih dupina (*Grampus griseus*)

U Tablici 19 prikazane su srednje vrijednosti, mediani te minimalne i maksimalne koncentracije arsena u tkivima jedinki dobrog dupina, plavobijelog dupina i glavatog dupina. U Prilogu 3 prikazane su srednje vrijednosti, mediani te minimalne i maksimalne koncentracije arsena u tkivima dupina podijeljenih prema dobnim skupinama i spolu.

Opažene razlike u koncentraciji arsena statistički su značajne u svim tkivima različitih vrsta dupina osim u koži.



**Tablica 19:** Sadržaj arsena u tkivima ispitivanih dupina<sup>o</sup>

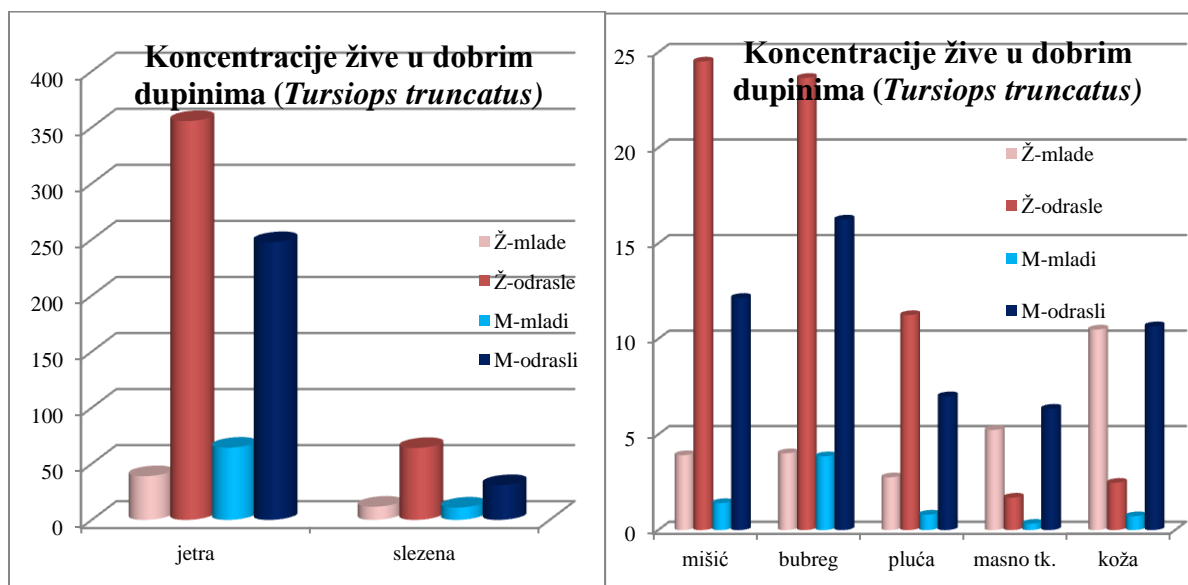
		Mišić	Bubreg	Jetra	Slezena	Pluća	Masno tkivo	Koža
<b>Dobri dupin</b> ( <i>Tursiops truncatus</i> )	N	148	150	146	138	142	90	48
	Medijan	0,216	0,334	0,395	0,246	0,237	0,708	0,324
	Min	0,01	0,01	0,019	0,01	0,01	0,021	0,08
	Max	1,395	1,895	8,948	3,984	4,358	3,939	1,45
<b>Glavati dupin</b> ( <i>Grampus griseus</i> )	N	6	6	6	5	5	-	-
	Medijan	0,966	1,255	2,262	1,013	0,819	-	-
	Min	0,324	0,342	0,444	0,214	0,168	-	-
	Max	1,976	4,733	12,878	2,265	1,806	-	-
<b>Plavobijeli dupin</b> ( <i>Stenella coeruleoalba</i> )	N	24	24	24	23	23	13	4
	Medijan	0,227	0,53	0,937	0,525	0,37	1,329	0,577
	Min	0,033	0,058	0,075	0,027	0,031	0,432	0,319
	Max	0,911	1,895	5,06	1,361	1,446	4,06	1,119
<b>Svi</b>	N	178	180	176	166	170	103	52
	Medijan	0,223	0,358	0,432	0,271	0,25	0,763	0,327
	Min	0,01	0,01	0,019	0,01	0,01	0,021	0,08
	Max	1,976	4,733	12,878	3,984	4,358	4,06	1,45
<b>P (Kruskall-Wallis)</b>		<b>0,0012</b>	<b>0,0022</b>	<b>0,0001</b>	<b>0,0003</b>	<b>0,0044</b>	<b>0,0056</b>	0,1142

<sup>o</sup> Korišten je neparametrijski Kruskall-Wallis test za utvrđivanje razlika u koncentraciji arsena u tkivima između tri vrste ispitivanih dupina



**3.5. Koncentracije žive u tkivima dobrih dupina (*Tursiops truncatus*), plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*) i glavatih dupina (*Grampus griseus*)**

Na Slikama 13-15 prikazani su rezultati određivanja koncentracija žive u tkivima dobrih dupina (*Tursiops truncatus*), plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*) i glavatih dupina (*Grampus griseus*).



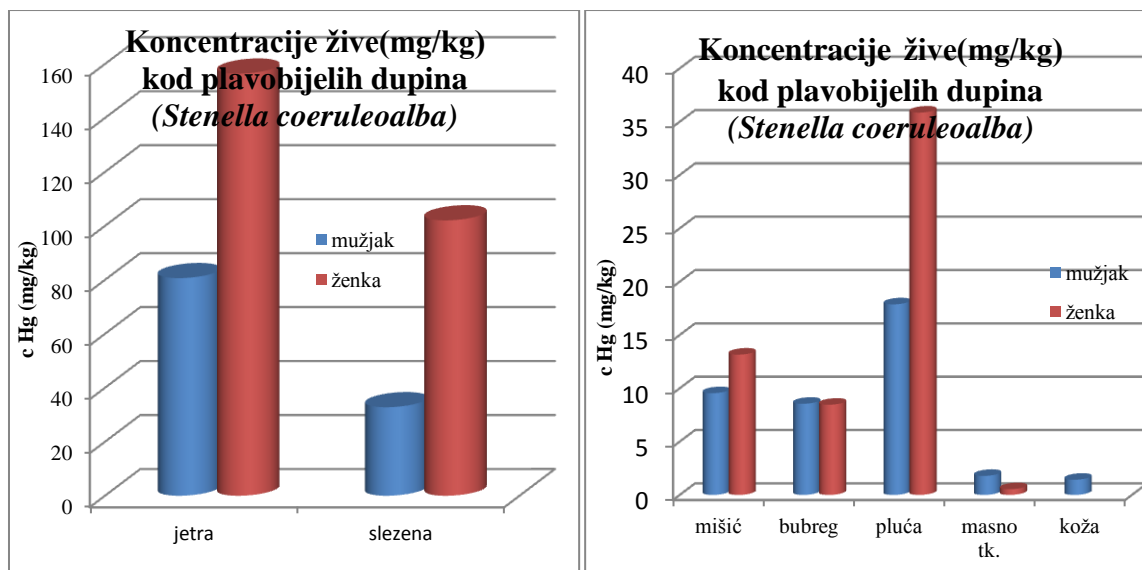
**Slika 13:** Srednje vrijednosti koncentracija žive u tkivima dobrih dupina (*Tursiops truncatus*)

Rezultati koncentracija žive dobrih dupina pokazuju najviše vrijednosti u jetri, zatim slezeni, bubrezima, mišićima i plućima. Najniže koncentracije nalaze se u masnom tkivu i koži. U odraslim ženjkama dupina u odnosu na odrasle mužjake srednje vrijednosti žive su više u mišićima, jetri, bubrezima, slezeni i plućima a podjednake u masnom tkivu i koži. Maksimalna vrijednost izmjerena je u jetri ženke dobrih dupina s Pelješca i iznosi 2 238 mg/kg.

Median vrijednost koncentracije u jetri odraslih ženki dobrih dupina je 256,5 mg/kg a kod odraslih mužjaka 141,8 mg/kg. Uočljivo je da su koncentracije u odraslim jedinkama



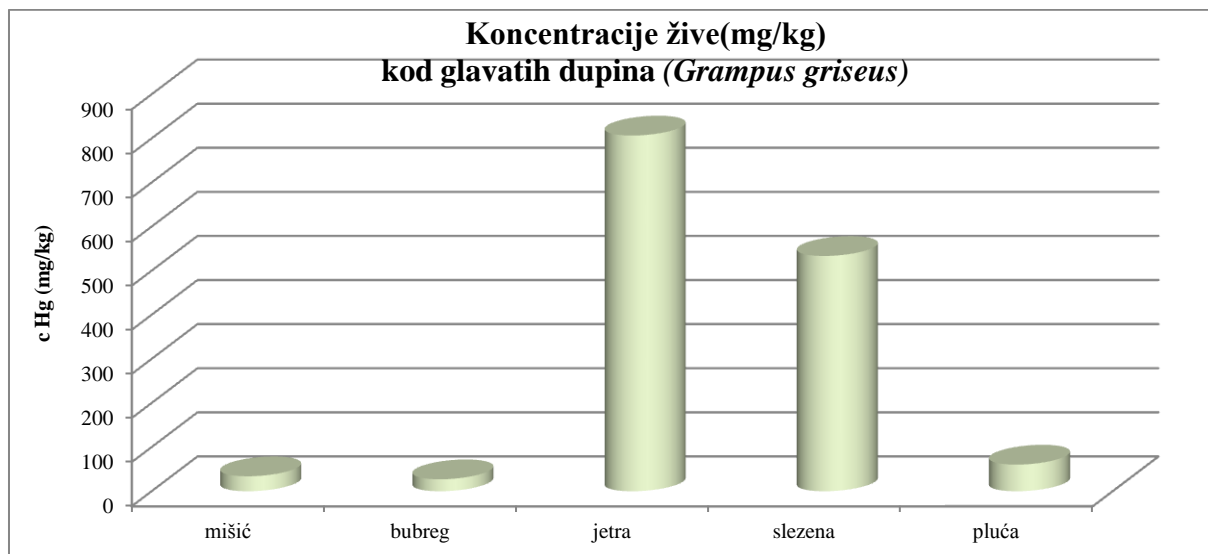
znatno više nego kod mladunčadi. Median vrijednost u jetri mlade ženke dobrih dupina iznosi 2,06 mg/kg dok kod mladog mužjaka iznosi 3,78 mg/kg. U svim organima postoji velika disperzija rezultata koja se kreće od 0,01 mg/kg do više od 100 mg/kg.



**Slika 14:** Srednje vrijednosti koncentracija žive u tkivima plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*)

Rezultati vrijednosti koncentracija žive plavobijelih dupina najviše su u jetri, zatim slezeni i plućima. Isto tako kod ženki dupina izmjerene su više koncentracije metala u svim ispitivanim tkivima, osim masnog tkiva gdje su vrijednosti žive više kod mužjaka. Najviša vrijednost izmjerena je kod ženke dupina kod ušća Neretve i iznosi 679 mg/kg što je niže od vrijednosti izmjerene kod dobrih dupina, kao što su i median vrijednosti za jetru, bubreg i mišić niže kod ženki i mužjaka plavobijelih dupina uspoređujući ih s dobrim dupinima. Obrnuto, koncentracije žive u plućima i slezeni plavobijelih dupina su više nego kod dobrih dupina.





**Slika 15:** Srednje vrijednosti koncentracija žive u tkivima glavatih dupina (*Grampus griseus*)

Median vrijednosti žive kod glavatih dupina pokazuju najviše koncentracije u svim tkivima u odnosu na dobre dupine i plavobijele dupine. Sve dobivene vrijednosti su visoke, Najniža koncentracija iznosi 5,997 mg/kg u bubregu, a najviša 1 738,11 mg/kg u jetri dupina pronađenog kod Molata. Raspodjela koncentracija po tkivima ista je kao kod plavobijelih dupina.

U Tablici 20 prikazane su srednje vrijednosti, mediani te minimalne i maksimalne koncentracija žive u tkivima jedinki dobrog dupina, plavobijelog dupina i glavatog dupina. U Prilogu 4 prikazane su srednje vrijednosti, mediani te minimalne i maksimalne koncentracije žive u tkivima dupina podijeljenih prema dobnim skupinama i spolu.

Razlike u koncentraciji žive u tkivima različitih vrsta dupina statistički su značajne za sva promatrana tkiva osim masnog tkiva i kože.



**Tablica 20:** Sadržaj žive u tkivima ispitivanih dupina<sup>o</sup>

		Mišić	Bubreg	Jetra	slezena	pluća	Masno tkivo	Koža
<b>Dobri dupin</b> ( <i>Tursiops truncatus</i> )	N	150	150	144	140	142	90	47
	Medijan	1,825	5,789	44,475	2,194	1,416	0,468	1,205
	Min	0,035	0,058	0,069	0,001	0,001	0,01	0,074
	Max	142,9	20515	2238	518,9	460	83,56	101,3
<b>Glavati dupin</b> ( <i>Grampus griseus</i> )	N	6	6	6	5	5	0	-
	Medijan	23,747	29,317	870,2875	377,786	68,92	,	-
	Min	14,23	5,997	64,86	18,56	14,72	,	-
	Max	73,08	41,81	1738,113	1304,29	101,85	,	-
<b>Plavobijeli dupin</b> ( <i>Stenella coeruleoalba</i> )	N	24	24	24	22	22	13	4
	Medijan	7,1055	4,545	75,35	37,475	20,579	0,738	1,321
	Min	0,319	0,455	1,32	1,026	0,072	0,109	0,386
	Max	48,43	38,53	679	224	78,595	10,997	2,663
<b>Svi</b>	N	180	180	174	167	169	103	51
	Medijan	2,4705	6,200	55,279	3,648	2,101	0,532	1,205
	Min	0,035	0,058	0,069	0,001	0,001	0,001	0,074
	Max	142,9	20515	2238	1304,29	460	83,56	191,3
<b>P (Kruskall-Wallis)</b>		<b>0,0014</b>	<b>0,0214</b>	<b>0,0076</b>	<b>0,0001</b>	<b>0,0001</b>	0,4838	1,0

<sup>o</sup>Korišten je neparametrijski Kruskall-Wallis test za utvrđivanje razlika u koncentraciji žive u tkivima između tri vrste ispitivanih dupina

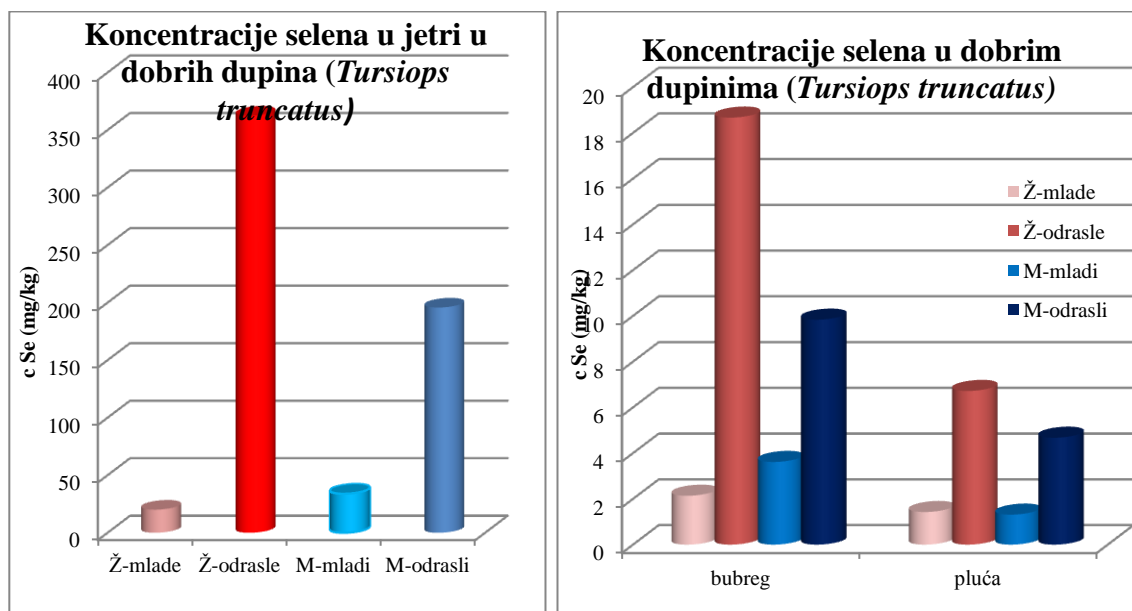


**3.6. Koncentracije selena u tkivima dobrih dupina (*Tursiops truncatus*), plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*) i glavatih dupina (*Grampus griseus*)**

Na Slikama 16-18 prikazani su rezultati određivanja koncentracija selena u tkivima kod dobrih dupina (*Tursiops truncatus*), plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*) i glavatih dupina (*Grampus griseus*).

Srednje vrijednosti koncentracija selena dobrih dupina najviše su u jetri, zatim bubregu i plućima u sve četiri kategorije. Odrasle ženke dupina prosječno sadrže najviše selena u svim ispitivanim tkivima. Nakon njih slijede odrasli mušjaci dupina, zatim mladunčad muških i na kraju mladunčad ženki s najnižim koncentracijama selena. Najviša vrijednost izmjerena je u jetri odrasle ženke dupina s Pelješca, a iznosi 2915,47 mg/kg.

Postoji velika razlika u koncentracijama između odraslih jedinki dobrih dupina u odnosu na mladunčad.



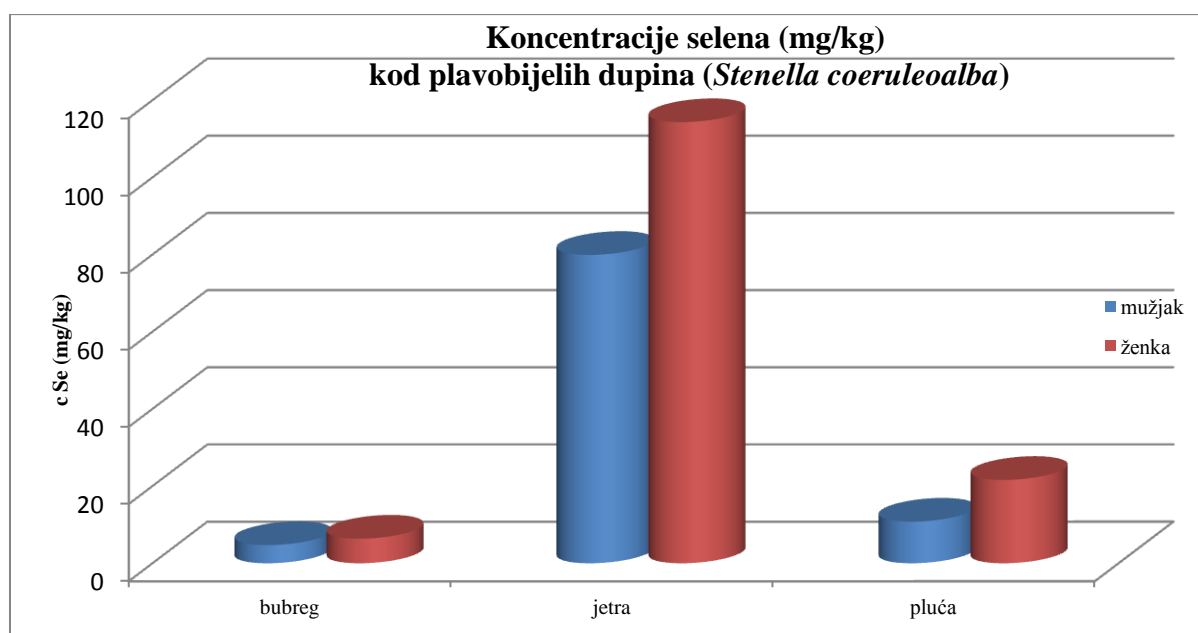
**Slika 16:** Srednje vrijednosti koncentracija selena u tkivima dobrih dupina (*Tursiops truncatus*)



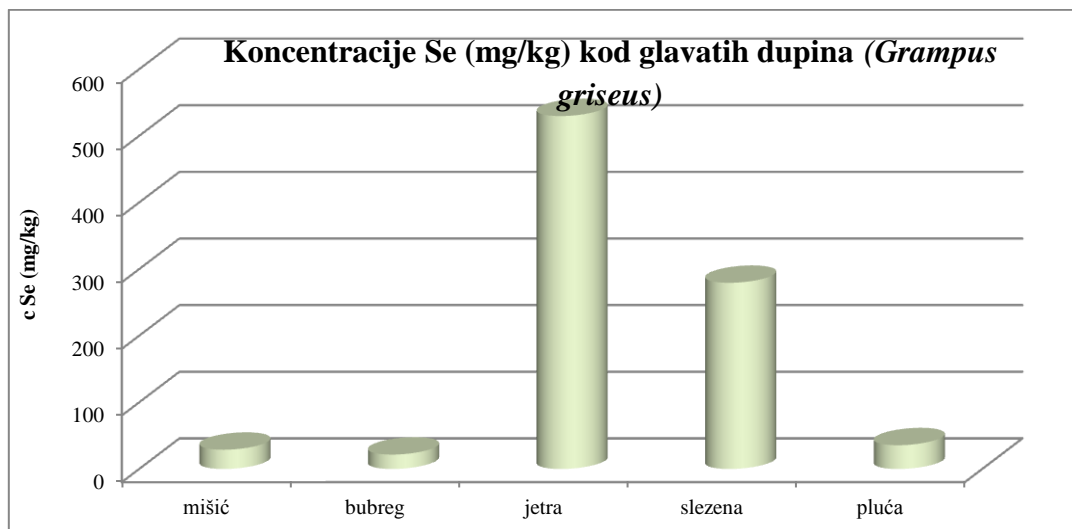
Koncentracija selena plavobijelih dupina slijede odnose koncentracija opisane kod dobrih dupina s obzirom na spol. Raspored koncentracija selena u ispitivanom tkivu je različit, odnosno, najviše koncentracije nalaze se u jetri, nakon jetre slijede pluća i tek onda bubreg.

Najviša vrijednost izmjerena je kod ženke dupina kod Supetra, a iznosi 430,32 mg/kg što je puno niže od vrijednosti izmjerene kod dobrih dupina.

Uspoređujući odnose koncentracija selena kod dobrih dupina i plavobijelih dupina, više vrijednosti izmjerene su kod dobrih dupina u svim ispitivanim tkivima osim u plućima. Median vrijednost selena u plućima kod ženki plavobijelih dupina je 16,41 mg/kg i mušjaka 8,59 mg/kg dok su median vrijednosti selena odraslih ženki dobrih dupina 2,22 mg/kg, a odraslih mušjaka 2,09 mg/kg.



**Slika 17:** Srednje vrijednosti koncentracija selena u tkivima plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*)



*Slika 18:* Srednje vrijednosti koncentracija selena u tkivima glavatih dupina (*Grampus griseus*)

Koncentracije glavatih dupina pokazuju najviše vrijednosti selena u svim tkivima u odnosu na dobre i plavobijele dupine. Raspored koncentracije po tkivima najviši je u jetri, zatim slezeni, podjednak je u plućima i mišiću, a najniži u bubregu. Budući da je kod glavatih dupina selen mjereno u svim tkivima, koncentracije u slezeni i mišićima imaju više vrijednosti od bubrega. Najviša koncentracija izmjerena je u jetri i iznosi 1069,35 mg/kg. Dupin je pronađen kod Molata.

U Tablici 21 prikazane su srednje vrijednosti, medijani te minimalne i maksimalne koncentracije selena u tkivima jedinki dobrog dupina, plavobijelog dupina i glavatog dupina. U Prilogu 5 prikazane su srednje vrijednosti, medijani te minimalne i maksimalne koncentracije selena u tkivima dupina podijeljenih prema dobnim skupinama i spolu.

Opažene razlike u koncentraciji selena u istovrsnim tkivima različitih vrsta dupina statistički su različite.



**Tablica 21:** Sadržaj selena u tkivima ispitivanih dupina<sup>o</sup>

		Mišić	Bubreg	Jetra	slezena	pluća	Masno tkivo
<b>Dobri dupin</b> ( <i>Tursiops truncatus</i> )	N	33	150	146	33	143	4
	Medijan	0,661	3,9815	48,363	1,716	1,439	,9205
	Min	0,001	0,01	0,123	0,089	0,047	0,216
	Max	81,856	137,126	2915,47	143,166	53,426	2,241
<b>Glavati dupin</b> ( <i>Grampus griseus</i> )	N	6	6	6	5	5	-
	Medijan	23,6	15,258	528,7845	169,569	38,086	-
	Min	3,828	5,096	95,912	5,288	7,652	-
	Max	80,24	58,275	1069,36	761,688	58,015	-
<b>Plavobijeli dupin</b> ( <i>Stenella coeruleoalba</i> )	N	10	24	24	10	23	1
	Medijan	5,837	5,022	82,3175	38,851	11,536	2,574
	Min	,001	1,384	1,995	3,738	2,185	2,574
	Max	9,551	11,585	430,32	174,905	66,711	2,574
<b>Svi</b>	N	49	180	176	48	171	5
	Medijan	2,538	4,4565	71,373	7,176	1,911	1,465
	Min	0,001	0,01	0,123	0,089	0,047	0,216
	Max	81,856	137,126	2915,47	761,69	66,711	2,574
<b>P (Kruskall-Wallis)</b>		<b>0,0133</b>	<b>0,0086</b>	<b>0,0049</b>	<b>0,0004</b>	<b>0,0001</b>	0,1573

<sup>o</sup> Korišten je neparametrijski Kruskall-Wallis test za utvrđivanje razlika u koncentraciji selena u tkivima između tri vrste ispitivaih dupina



**3.7. Hg:Se molarni odnos u tkivima dobrih dupina (*Tursiops truncatus*), plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*) i glavatih dupina (*Grampus griseus*)**

U Tablici 22 prikazani su molarni odnosi Hg:Se i Se:Hg u jetri, bubrezima i plućima dobrih dupina, plavobijelih dupina i glavatih dupina.

**Tablica 22:** Molarni odnos Hg i Se u jetri, bubregu i plućima dupina

Vrsta dupina	Hg:Se molarni odnos		
	bubreg	jetra	pluća
Dobri dupin ( <i>Tursiops truncatus</i> ) $\geq 7$	0,71	0,87	0,72
Dobri dupin ( <i>Tursiops truncatus</i> ) $\leq 6$	0,43	0,75	0,22
Plavobijeli dupin ( <i>Stenella coeruleoalba</i> )	0,85	0,39	0,50
Glavati dupin ( <i>Grampus griseus</i> )	0,66	0,67	0,48
Vrsta dupina	Se:Hg molarni odnos		
	bubreg	jetra	pluća
Dobri dupin ( <i>Tursiops truncatus</i> ) $\geq 7$	2,44	4,49	2,43
Dobri dupin ( <i>Tursiops truncatus</i> ) $\leq 6$	4,87	4,21	16,66
Plavobijeli dupin ( <i>Stenella coeruleoalba</i> )	3,47	2,96	2,90
Glavati dupin ( <i>Grampus griseus</i> )	2,05	2,11	1,49

Oznake u Tablici: Dobri dupin (*Tursiops truncatus*)  $\geq 7$  stariji od 6 godina, Dobri dupin (*Tursiops truncatus*)  $\leq 6$  mladi od 6 godina

Hg:Se molarni odnos u jetri dobrih dupina kod mladih i odraslih jedinki iznosi 0,75 odnosno 0,87 što je približno jednaka vrijednost. Molarni odnosi se razlikuju s obzirom na dob u bubrezima i plućima. Vrijednosti u bubrezima i plućima odraslih jedinki dobrih dupina su približno jednake dok su kod mladih jedinki odnosi znatno niži, osobito u plućima. Hg:Se molarni odnosi u jetri i bubrezima glavatih dupina su podjednaki dok su vrijednosti u plućima niže. Hg:Se molarni odnos kod plavobijelih dupina najviši je u bubregu i iznosi 0,85 zatim u plućima, a najniži u jetri.



**3.8. Utjecaj bioloških faktora na koncentraciju metala u tkivima**

U Tablicama 23-25 prikazana je povezanost sadržaja metala u tkivima različitih dobnih kategorija dobrih dupina (*Tursiops truncatus*).

**Tablica 23:** Povezanost sadržaja kadmija i olova u tkivima različitih dobnih kategorija dobrih dupina (*Tursiops truncatus*)<sup>o</sup>

Dob (godina)	Cd	Mišić	Bubreg	Jetra	Slezena	Pluća	Masno tkivo	Koža
≤6	N	55	54	52	50	52	39	16
	MED	0,001	0,0565	0,018	0,0035	0,005	0,001	0,003
	m	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
	M	0,026	8,697	2,848	0,101	0,385	0,024	0,016
≥7	N	79	80	81	76	75	38	19
	MED	0,007	1,702	0,261	0,0405	0,029	0,0035	0,005
	m	0,001	0,056	0,022	0,001	0,005	0,001	0,001
	M	9,598	10,046	4,482	0,272	0,236	0,02	0,075
<b>P (Man Whitney)</b>		<b>&lt;0,0001</b>	<b>&lt;0,0001</b>	<b>&lt;0,0001</b>	<b>&lt;0,0001</b>	<b>&lt;0,0001</b>	<b>0,0230</b>	0,1862





Tablica 23, (Nastavak)

Dob (godina)	Pb	Mišić	Bubreg	Jetra	Slezena	Pluća	Masno tkivo	Koža
≤6	N	55	54	52	50	52	39	16
	MED	0,019	0,0765	0,058	0,047	0,059	0,064	0,073
	m	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
	M	0,54	1,317	1,097	1,612	3,998	2,115	0,44
≥7	N	79	80	81	76	75	38	19
	MED	0,016	0,0535	0,123	0,0345	0,057	0,0385	0,02
	m	0,01	0,01	0,01	0,005	0,003	0,01	0,01
	M	0,372	1,594	0,71	2,101	67,8	0,239	1,685
<b>P (Man Whitney)</b>		0,4975	0,1629	<b>0,0002</b>	0,5875	0,9314	0,0783	0,1245

° Korišten je neparametrijski Man Whitney test za utvrđivanje razlika u koncentraciji metala u tkivima između dvije skupine ispitivanih dobrih dupina (*Tursiops truncatus*): ≤6 mladunčad; ≥7 odrasli dupini

Oznake u Tablici: N- broj jedinki; M-maksimalna vrijednost; m-minimalna vrijednost; MED-median

Sadržaj kadmija u svim promatranim tkivima osim kože viši je u starijih pripadnika vrste dobrih dupina nego u tkivima mlađih životinja, a opažene razlike statistički su značajne. Koncentracija olova podjednaka je u istovrsnim tkivima neovisno o dobi dobrih dupina. Iznimka je koncentracija olova u jetri koja se statistički razlikuje između dviju dobnih skupina (P=0,0002).



**Tablica 24:** Povezanost sadržaja žive i arsena u tkivima različitih dobnih kategorija dobrih dupina (*Tursiops truncatus*)<sup>o</sup>

Dob (godina)	Hg	Mišić	Bubreg	Jetra	Slezena	pluća	Masno tkivo	Koža
≤6	N	55	54	52	50	51	39	16
	MED	0,435	1,025	2,064	0,323	0,232	0,153	0,498
	m	0,053	0,058	0,069	0,001	0,001	0,001	0,105
	M	99,47	32,24	1014,6	207,8	460	1,544	3,018
≥7	N	79	80	80	77	75	38	18
	MED	9,38	10,975	181,55	12,81	3,816	1,195	2,2075
	m	0,268	0,323	1,979	0,35	0,395	0,176	0,074
	M	142,9	20515	2238	518,9	88,246	6,242	8,15
<b>P (Man Whitney)</b>		<b>&lt;0,0001</b>	<b>&lt;0,0001</b>	<b>&lt;0,0001</b>	<b>&lt;0,0001</b>	<b>&lt;0,0001</b>	<b>&lt;0,0001</b>	<b>0,0008</b>
Dob (godina)	As	Mišić	Bubreg	Jetra	Slezena	pluća	Masno tkivo	Koža
≤6	N	55	54	52	50	52	39	16
	MED	0,181	0,294	0,3005	0,1975	0,2175	0,6678	0,272
	m	0,031	0,032	0,032	0,01	0,01	0,109	0,107
	M	1,018	1,722	4,5	2,835	0,704	1,891	0,982
≥7	N	77	80	81	75	74	38	19
	MED	0,251	0,393	0,477	0,264	0,2495	0,8795	0,47
	m	,01	0,01	0,027	0,01	0,01	0,021	0,137
	M	1,395	1,855	8,948	1,868	4,358	3,939	1,349
<b>P (Man Whitney)</b>		0,1102	<b>0,0259</b>	<b>0,0016</b>	<b>0,0284</b>	0,2554	<b>0,0006</b>	<b>0,0469</b>

<sup>o</sup> Korišten je neparametrijski Man Whitney test za utvrđivanje razlika u koncentraciji metala u tkivima između dvije skupine ispitivanih dobrih dupina (*Tursiops truncatus*): ≤6 mladunčad; ≥7 odrasli dupini  
Oznake u Tablici: N- broj jedinki; M-maksimalna vrijednost; m-minimalna vrijednost; MED-median



Sadržaj žive i arsena u svim promatranim tkivima je viši u starijih pripadnika vrste dobrih dupina nego u tkivima mlađih životinja. Opažene razlike u koncentraciji žive u svim promatranim tkivima statistički se razlikuju između dobnih skupina dobrih dupina. Također, statistički su značajne razlike u sadržaju arsena u tkivima različitih dobnih skupina dobrih dupina u većini tkiva, osim u mišiću i plućima.

**Tablica 25:** Povezanost sadržaja selena u tkivima različitih dobnih kategorija dobrih dupina (*Tursiops truncatus*)<sup>o</sup>

Dob (godina)		Mišić	Bubreg	Jetra	Slezena	pluća	Masno tkivo
≤6	N	10	54	53	10	52	1
	MED	0,0555	1,519	1,494	0,869	0,959	0,216
	m	0,001	0,252	0,123	0,089	0,097	0,216
	M	0,77	32,104	800,825	7,836	10,139	0,216
≥7	N	23	80	80	23	75	3
	MED	2,538	5,7755	145,2595	4,745	2,092	1,465
	m	0,001	0,937	2,115	0,564	0,374	0,376
	M	81,856	137,126	2915,471	143,166	53,426	2,241
<b>P (Man Whitney)</b>		<b>0,0013</b>	<b>&lt;0,0001</b>	<b>&lt;0,0001</b>	<b>0,0008</b>	<b>&lt;0,0001</b>	0,1797

<sup>o</sup> Korišten je neparametrijski Man Whitney test za utvrđivanje razlika u koncentraciji metala u tkivima između dvije skupine ispitivanih dobrih dupina (*Tursiops truncatus*): ≤6 mladunčad; ≥7 odrasli dupini

Oznake u Tablici: N- broj jedinki; M-maksimalna vrijednost; m-minimalna vrijednost; MED-median



Sadržaj selena u svim promatranim tkivima viši je u starijih pripadnika vrste dobrih dupina nego u tkivima mlađih životinja. Koncentracija selena statistički se razlikuje u istim tkivima različitih dobnih skupina dobrih dupina. Opažene razlike u koncentraciji selena u koži nisu statistički značajne, međutim, dostupni su podaci za svega 4 dupina.

Neparametrijskim Man Whitney testom ispitivano je da li postoje razlike između spolova u pogledu koncentracija metala u pojedinim tkivima (Tablica 26).

**Tablica 26:** Povezanost sadržaja metala sa spolom dupina °

	<b>Cd</b>	<b>Pb</b>	<b>Hg</b>	<b>As</b>	<b>Se</b>
<b>Mišić</b>	0,7796	0,4819	0,9446	0,4306	0,8125
<b>Bubreg</b>	0,0798	0,4495	0,25	0,092	0,3924
<b>Jetra</b>	0,1869	0,7541	0,3718	0,1635	0,3968
<b>Slezena</b>	0,7481	0,1452	0,3269	0,7077	0,8842
<b>Pluća</b>	0,3744	<b>0,0120</b> M (0,059; 0,01-3,998) Ž (0,057; 0,003-67,8)	0,9853	0,3057	0,2624
<b>Masno tkivo</b>	0,8261	0,5820	0,9279	0,2772	1
<b>Koža</b>	0,5825	0,3346	0,7828	0,3356	-

° Korišten je neparametrijski Man Whitney test za utvrđivanje razlika u koncentraciji metala u tkivima između spolova ispitivanih dobrih dupina (*Tursiops truncatus*)

Statistički značajna razlika između spolova utvrđena je samo u sadržaju olova u plućnom tkivu.



**3.9. Utjecaj geografskog faktora na koncentraciju metala u tkivima dobrih dupina (*Tursiops truncatus*), plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*) i glavatih dupina (*Grampus griseus*)**

U Tablici 27 prikazana je povezanost sadržaja pojedinih metala s lokacijom pronalaska dupina.

*Tablica 27:* Povezanost sadržaja metala s lokacijom pronalaska dupina °

	<b>Cd</b>	<b>Pb</b>	<b>Hg</b>	<b>As</b>	<b>Se</b>
<b>Mišić</b>	0,1602	0,5716	0,4158	0,1839	0,2557
<b>Bubreg</b>	0,5466	0,0657	0,4115	0,3011	0,4256
<b>Jetra</b>	0,5485	0,0542	0,9394	0,0942	0,4973
<b>Slezena</b>	0,373	0,5697	0,7893	0,2702	0,4713
<b>Pluća</b>	0,7474	0,3706	0,6636	<b>0,0291</b>	<b>0,0049</b>
<b>Masno tkivo</b>	1	0,4498	0,4070	0,4257	0,1213
<b>Koža</b>	0,7969	<b>0,0346</b>	0,3758	0,9152	-

° Korišten je neparametrijski Man Whitney test za utvrđivanje razlika u koncentraciji metala u tkivima između geografskog položaja (sjeverni i južni dio Jadrana) ispitivanih dobrih dupina (*Tursiops truncatus*)

U pogledu koncentracije metala u tkivima dobrih dupina (*Tursiops truncatus*) sa sjevera u odnosu na dobre dupine s juga, statistički značajne razlike ( $P < 0,05$ ) opažene su u sadržaju olova u koži te sadržaju arsena i selena u plućima. Koncentracije olova u koži značajno su više na sjevernom dijelu, dok su koncentracije arsena i selena u plućima značajno više na južnom dijelu.



**3.10. Povezanost koncentracija metala s razdobljem promatranja**

U Tablicama 28-32 prikazane su povezanosti pojedinih metala s razdobljem promatranja kod dobrih dupina (*Tursiops truncatus*) i plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*). Razdoblja su podijeljena na tri perioda. Prvi period obuhvaća uzorke dupina prikupljene od 1995.-2004., drugi period odnosi se na uzorke dupina prikupljene od 2005.-2010. i treći period obuhvaća uzorke dupina prikupljene od 2011.-2014.

**Tablica 28:** Povezanost koncentracija kadmija s razdobljem promatranja kod dobrih dupina (*Tursiops truncatus*) i plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*)°

razdoblje	pokazatelj	Dobri dupin ( <i>Tursiops truncatus</i> )						
		Mišić	Bubreg	Jetra	Slezena	Pluća	Masno tkivo	Koža
Do 2004	N	49	49	49	46	43	4	
	MED	0,003	1,031	0,157	0,021	0,019	0,001	
	m-M	0,001-9,598	0,001-10,046	0,001-4,482	0,001-0,272	0,001-0,178	0,001-0,004	
2005-2010	N	71	71	67	64	71	56	18
	MED	0,003	0,864	0,217	0,027	0,019	0,002	0,005
	m-M	0,001-0,036	0,001-14,178	0,001-2,371	0,001-0,418	0,001-0,385	0,001-0,024	0,001-0,075
2011 -	N	30	30	30	29	29	30	30
	MED	0,0015	0,4515	0,063	0,014	0,01	0,004	0,005
	m-M	0,001-0,084	0,001-3,402	0,001-0,568	0,001-0,134	0,001-5,022	0,001-1,447	0,001-0,277
<b>P (Kruskal-Wallis)</b>		0,5708	0,16	0,1059	0,5498	0,6818	0,0891	0,6524



Tablica 28, (Nastavak)

razdoblje	pokazatelj	Plavobijeli dupin ( <i>Stenella coeruleoalba</i> )						
		Mišić	Bubreg	Jetra	Slezena	Pluća	Masno tkivo	Koža
Do 2004	N	11	11	11	11	10	1	
	MED	0,029	6,499	2,413	0,266	0,151	0,015	
	m-M	0,007-0,14	0,271-17,548	0,122-9,108	0,18-1,193	0,081-0,581	0,015-0,015	
2005-2010	N	4	4	4	3	4	3	
	MED	0,01	4,403	1,277	0,191	0,1525	0,002	
	m-M	0,001-0,016	0,323-9,841	0,045-2,44	0,089-0,596	0,003-0,26	0,001-0,016	
2011 -	N	9	9	9	9	9	9	4
	MED	0,039	13,349	3,788	0,247	0,149	0,021	0,0335
	m-M	0,013-0,076	4,499-18,509	2,336-9,56	0,114-0,685	0,103-0,404	0,006-0,033	0,013-0,049
<b>P (Kruskal-Wallis)</b>		<b>0,0404</b>	<b>0,0346</b>	<b>0,0198</b>	0,6883	0,9504	0,1503	-

° Korišten je neparametrijski Kruskal-Wallis test za utvrđivanje razlika u koncentraciji kadmija u tkivima između tri vremenska perioda kod dobrih dupina (*Tursiops truncatus*) i plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*)

Oznake u Tablici: N- broj jedinki; M-maksimalna vrijednost; m-minimalna vrijednost; MED-median



**Tablica 29:** Povezanost koncentracija olova s razdobljem promatranja kod dobrih dupina (*Tursiops truncatus*) i plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*)°

razdoblje	pokazatelj	Dobri dupin ( <i>Tursiops truncatus</i> )						
		Mišić	Bubreg	Jetra	Slezena	Pluća	Masno tkivo	Koža
Do 2004	N	49	49	49	46	43	4	
	MED	0,013	0,055	0,118	0,03	0,038	0,0525	
	m-M	0,01-0,369	0,01-1,594	0,01-0,603	0,005-2,101	0,003-67,8	0,021-0,183	
2005-2010	N	71	71	67	64	71	56	18
	MED	0,035	0,068	0,094	0,0575	0,081	0,0615	0,0335
	m-M	0,01-0,54	0,01-1,317	0,01-0,71	0,01-1,612	0,01-4,329	0,01-2,115	0,01-1,242
2011 -	N	30	30	30	29	29	30	30
	MED	0,01	0,019	0,0405	0,01	0,017	0,0255	0,0285
	m-M	0,001-0,112	0,01-0,423	0,01-1,097	0,01-0,314	0,01-3,998	0,01-3,927	0,01-1,685
<b>P (Kruskal-Wallis)</b>		<b>0,0001</b>	<b>0,0007</b>	<b>0,0028</b>	<b>0,0003</b>	0,0762	<b>0,0145</b>	0,3373
razdoblje	pokazatelj	Plavobijeli dupin ( <i>Stenella coeruleoalba</i> )						
		Mišić	Bubreg	Jetra	Slezena	Pluća	Masno tkivo	Koža
Do 2004	N	11	11	11	11	10	1	
	MED	0,011	0,036	0,088	0,025	0,031	0,046	
	m-M	0,01-0,689	0,024-0,295	0,039-1,456	0,01-0,497	0,01-1,04	0,046-0,046	
2005-2010	N	4	4	4	3	4	3	
	MED	0,081	0,088	0,0475	0,058	0,145	0,084	
	m-M	0,025-0,279	0,071-0,57	0,034-0,13	0,03-1,474	0,049-0,185	0,069-0,102	





**Tablica 29, (Nastavak)**

<b>2011 -</b>	N	9	9	9	9	9	9	4
	MED	0,02	0,049	0,08	0,022	0,049	0,056	0,139
	m-M	0,01-0,074	0,01-0,354	0,042-0,151	0,01-0,118	0,01-1,286	0,013-0,135	0,047-0,219
<b>P (Kruskal-Wallis)</b>		0,0527	0,1711	0,3151	0,1528	0,1376	0,3008	-

° Korišten je neparametrijski Kruskal-Wallis test za utvrđivanje razlika u koncentraciji olova u tkivima između tri vremenska perioda kod dobrih dupina (*Tursiops truncatus*) i plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*):

Oznake u Tablici: N- broj jedinki; M-maksimalna vrijednost; m-minimalna vrijednost; MED-median

**Tablica 30: Povezanost koncentracija žive s razdobljem promatranja kod dobrih dupina (*Tursiops truncatus*) i plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*)°**

razdoblje	pokazatelj	Dobri dupin ( <i>Tursiops truncatus</i> )						
		Mišić	Bubreg	Jetra	Slezena	Pluća	Masno tkivo	Koža
<b>Do 2004</b>	N	49	49	48	47	43	4	
	MED	4,473	8,692	71,47	2,604	2,054	0,838	
	m-M	0,035-136,6	0,246-20515	0,146-2238	0,001-499,7	0,001-88,246	0,175-4,117	
<b>2005-2010</b>	N	71	71	67	64	71	56	17
	MED	1,275	5,358	32,07	1,731	1,292	0,2415	0,699
	m-M	0,057-142,9	0,058-56,96	0,069-858,6	0,085-518,9	0,025-60,72	0,001-6,242	0,074-8,15
	N	30	30	29	29	28	30	30
	MED	1,6725	4,5575	12,13	3,476	1,6055	1,242	1,315
	m-M	0,239-99,47	0,081-36,63	0,401-933,1	0,096-207,8	0,058-460	0,037-83,56	0,192-101,3
<b>P (Kruskal-Wallis)</b>		<b>0,0409</b>	0,16	0,2771	0,4389	0,3635	<b>0,0028</b>	0,0569



**Tablica 30, (Nastavak)**

razdoblje	pokazatelj	Plavobijeli dupin ( <i>Stenella coeruleoalba</i> )						
		Mišić	Bubreg	Jetra	Slezena	Pluća	Masno tkivo	Koža
Do 2004	N	11	11	11	11	10	1	
	MED	15,601	10,587	128,3	62,72	33,029	10,997	
	m-M	3,05-34,252	1,732-38,53	29,59-679	4,624-178,3	9,259-78,595	10,997-10,997	
2005-2010	N	4	4	4	3	4	3	
	MED	1,074	4,062	7,784	1,34	1,236	,258	
	m-M	0,92-3,398	0,455-23,08	1,32-32,6	1,026-9,897	0,072-23,52	0,109-0,353	
2011 -	N	9	9	9	8	8	9	4
	MED	1,415	2,784	67,3	35,835	13,855	0,966	1,321
	m-M	0,319-48,43	0,836-9,877	19,36-130,5	14,08-224	3,758-41,41	0,494-1,154	0,386-2,663
<b>P (Kruskal-Wallis)</b>		<b>0,0184</b>	<b>0,0360</b>	<b>0,0039</b>	<b>0,0260</b>	<b>0,0174</b>	<b>0,0191</b>	

° Korišten je neparametrijski Kruskal-Wallis test za utvrđivanje razlika u koncentraciji žive u tkivima između tri vremenska perioda kod dobrih dupina (*Tursiops truncatus*) i plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*)

Oznake u Tablici: N- broj jedinki; M-maksimalna vrijednost; m-minimalna vrijednost; MED-median



**Tablica 31:** Povezanost koncentracija arsena s razdobljem promatranja kod dobrih dupina (*Tursiops truncatus*) i plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*)°

razdoblje	pokazatelj	Dobri dupin ( <i>Tursiops truncatus</i> )						
		Mišić	Bubreg	Jetra	Slezena	Pluća	Masno tkivo	Koža
Do 2004	N	47	49	49	45	42	4	
	MED	0,199	0,337	0,424	0,245	0,261	0,7	
	m-M	0,022-1,395	0,073-1,855	0,073-8,948	0,042-2,835	0,031-4,358	0,35-1,036	
2005-2010	N	71	71	67	64	71	56	18
	MED	0,264	0,414	0,477	0,2795	0,265	0,6935	0,4285
	m-M	0,049-1,18	0,032-1,895	0,032-4,275	0,01-3,984	0,01-2,12	0,109-3,939	0,154-1,45
2011 -	N	30	30	30	29	29	30	30
	MED	0,1355	0,2025	0,254	0,118	0,15	0,761	0,315
	m-M	0,01-0,725	0,01-1,353	0,019-1,189	0,01-0,656	0,01-0,706	0,021-2,32	0,08-0,982
<b>P (Kruskal-Wallis)</b>		<b>0,0256</b>	<b>0,0051</b>	<b>0,0086</b>	<b>0,0071</b>	<b>0,0236</b>	0,9187	<b>0,0476</b>
razdoblje	pokazatelj	Plavobijeli dupin ( <i>Stenella coeruleoalba</i> )						
		Mišić	Bubreg	Jetra	Slezena	Pluća	Masno tkivo	Koža
Do 2004	N	11	11	11	11	10	1	
	MED	0,216	0,486	0,868	0,525	0,4925	0,432	
	m-M	0,033-0,911	0,058-1,895	0,075-5,06	0,027-1,361	0,031-1,446	0,432-0,432	


**Tablica 31, (Nastavak)**

<b>2005-2010</b>	N	4	4	4	3	4	3	
	MED	0,2585	0,5115	0,5785	0,642	0,3985	2,259	
	m-M	0,177- 0,373	0,289- 0,948	0,433- 1,726	0,262- 0,843	0,218- 0,557	0,944- 4,06	
<b>2011 -</b>	N	9	9	9	9	9	9	4
	MED	0,236	0,605	1,177	0,471	0,362	1,329	0,5765
	m-M	0,149- 0,523	0,245- 1,063	0,281- 4,184	0,197- 0,982	0,148- 0,918	0,588- 2,177	0,319- 1,119
<b>P (Kruskal-Wallis)</b>		0,7572	0,6973	0,5586	0,8515	0,6550	0,1489	

° Korišten je neparametrijski Kruskal-Wallis test za utvrđivanje razlika u koncentraciji arsena u tkivima između tri vremenska perioda kod dobrih dupina (*Tursiops truncatus*) i plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*)

Oznake u Tablici: N- broj jedinki; M-maksimalna vrijednost; m-minimalna vrijednost; MED-median

**Tablica 32: Povezanost koncentracija selena s razdobljem promatranja kod dobrih dupina (*Tursiops truncatus*) i plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*)°**

razdoblje	pokazatelj	Dobri dupin ( <i>Tursiops truncatus</i> )						
		Mišić	Bubreg	Jetra	Slezena	Pluća	Masno tkivo	Koža
<b>Do 2004</b>	N	33	49	48	33	43	4	
	MED	0,661	6,214	71,3545	1,716	1,796	0,9205	
	m-M	0,001- 81,856	0,252- 137,126	0,362- 2915,471	0,089- 143,166	0,186- 41,227	0,216- 2,241	



Tablica 32. (Nastavak)

2005-2010	N	0	71	68	0	71	0	
	MED	-	3,659	47,1795	-	1,549	-	
	m-M	-	0,256-63,746	0,123-645,483	-	0,197-53,426	-	
2011 -	N	0	30	30	0	29	0	
	MED	-	2,087	3,6625	-	,814	-	
	m-M	-	0,01-35,91	0,154-1053,648	-	0,047-42,495	-	
<b>P (Kruskal-Wallis)</b>		-	<b>0,0001</b>	0,1243	-	<b>0,014</b>	-	
razdoblje	pokazatelj	<b>Plavobijeli dupin (<i>Stenella coeruleoalba</i>)</b>						
		Mišić	Bubreg	Jetra	Slezena	Pluća	Masno tkivo	Koža
Do 2004	N	10	11	11	10	10	1	
	MED	5,837	7,349	96,432	38,851	23,3945	2,574	
	m-M	0,001-9,551	3,991-11,585	5,939-430,32	3,738-174,905	3,866-66,711	2,574-2,574	
2005-2010	N	0	4	4	0	4	0	
	MED	-	2,146	38,535	-	3,5615	-	
	m-M	-	1,384-4,767	1,995-119,953	-	2,185-13,781	-	
2011 -	N	0	9	9	0	9	0	
	MED	-	4,344	82,723	-	10,907	-	
	m-M	-	1,514-8,23	45,526-132,926	-	5,613-44,355	-	
<b>P (Kruskal-Wallis)</b>			<b>0,0036</b>	0,264		0,0696		

° Korišten je neparametrijski Kruskal-Wallis test za utvrđivanje razlika u koncentraciji selena u tkivima između tri vremenska perioda kod dobrih dupina (*Tursiops truncatus*) i plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*)

Oznake u Tablici: N- broj jedinki; M-maksimalna vrijednost; m-minimalna vrijednost; MED-median



Opažene razlike u koncentraciji kadmija u tkivima dobrih dupina te slezeni, plućima i masnom tkivu plavobijelih dupina između različitih perioda promatranja nisu statistički značajne. Međutim, koncentracije kadmija u mišićnom, bubrežnom i jetrenom tkivu plavobijelih dupina statistički se razlikuju ( $P < 0,05$ ) između različitih perioda promatranja. Kod jetre i mišića koncentracije kadmija u prvom i trećem razdoblju su podjednake dok su koncentracije u drugom razdoblju značajno niže. Kod bubrega su koncentracije u prva dva perioda dvostruko niže nego u trećem periodu. Opažene razlike kod dobrih dupina u sadržaju olova u mišiću, bubregu, slezeni ( $P < 0,001$ ), jetri i masnom tkivu ( $P < 0,05$ ) statistički se razlikuju između različitih perioda promatranja. U navedenim tkivima koncentracije se smanjuju s vremenom i najniže vrijednosti zabilježene su u trećem vremenskom periodu. Jedino u plućima i koži razlike nisu statistički značajne, Razlike u koncentraciji olova u svim promatranim tkivima plavobijelih dupina između perioda promatranja nisu statistički značajne. Sadržaj žive u mišićnom i masnom tkivu ( $P < 0,05$ ) dobrih dupina statistički se razlikuju između različitih perioda promatranja. Razlike u koncentraciji žive u svim promatranim tkivima vrste plavobijelih dupina između perioda promatranja statistički su značajne ( $P < 0,05$ ). Također, kao i kod sadržaja olova, u navedenim tkivima koncentracije se smanjuju s vremenom i najniže vrijednosti zabilježene su u trećem vremenskom periodu. Koncentracije arsena u svim tkivima dobrih dupina, osim masnog tkiva, statistički se razlikuju između različitih perioda promatranja ( $P < 0,05$ ). U svim tkivima koja se statistički značajno razlikuju, u prvom periodu koncentracije su bile najviše, dok su se u trećem periodu koncentracije dvostruko smanjile u odnosu na početne. Razlike u koncentraciji arsena u svim promatranim tkivima plavobijelih dupina između perioda promatranja nisu statistički značajne. Opažene razlike u koncentraciji selena u bubrežnom ( $P < 0,001$ ) i plućnom tkivu ( $P < 0,05$ ) dobrih dupina i bubrežnom tkivu ( $P < 0,05$ ) plavobijelih dupina statistički se razlikuju između perioda promatranja. Navedena tkiva u prvom periodu pokazuju najviše vrijednosti dok su u drugom periodu vrijednosti najniže. Jetra dobrih dupina te jetra i pluća plavobijelih dupina između perioda promatranja nisu statistički značajne.



**3.11. Korelacija sadržaja metala između različitih tkiva dobrih dupina (*Tursiops truncatus*)**

U Tablicama 33-37 prikazani su sadržaji pojedinih metala između različitih tkiva dobrih dupina (*Tursiops truncatus*).

Za korelacije koncentracije metala između različitih tkiva korišten je Kendall Tau b test. Korelacija koncentracije kadmija između različitih tkiva parenhimskih organa dobrog dupina umjerena je do jaka i statistički je značajna. Posebice korelacije kadmija između bubrega i jetre pokazuje visoku povezanost. Koncentracije žive u različitim tkivima umjereno do jako su međusobno povezane i ne ponašaju se nezavisno jedna od druge. Korelacije između koncentracija arsena u bubregu, mišiću, jetri i plućima su jake i nisu međusobno nezavisne. Korelacije žive i arsena između bubrega i jetre pokazuju značajnu povezanost.

**Tablica 33:** Korelacija sadržaja kadmija između različitih tkiva dobrih dupina (*Tursiops truncatus*)<sup>o</sup>

Cd	Mišić	Bubreg	Jetra	Pluća	Slezena	Masno tkivo
<b>Bubreg</b>	0,3437					
<b>Jetra</b>	0,3499	0,7816				
<b>Pluća</b>	0,2504	0,5150	0,5540			
<b>Slezena</b>	0,4170	0,6599	0,6553	0,7178		
<b>Masno tkivo</b>	0,1670*	0,0691*	0,0619*	0,1943*	0,2507	
<b>Koža</b>	0,3108	0,0942*	0,0606*	0,2335	0,2704	0,4678

<sup>o</sup>Korišten je neparametrijski Kendall Tau b test za utvrđivanje korelacija sadržaja kadmija između različitih tkiva dobrih dupina (*Tursiops truncatus*)

Oznake u Tablici: \***P>0,05**; r: 0-0,2 nezatna povezanost; 0,2-0,4 umjerena povezanost; 0,4-0,7 značajna povezanost; 0,7-1 visoka povezanost



Korelacija koncentracije kadmija između različitih tkiva parenhimskih organa dobrog dupina umjerena je do jaka i statistički je značajna. Vrijednosti koncentracije između različitih tkiva nisu nezavisne jedne od drugih. Korelacije između koncentracije kadmija u koži i masnom tkivu s koncentracijom u parenhimskim organima slabije su i rijetko kad statistički značajne.

**Tablica 34:** Korelacija sadržaja olova između različitih tkiva dobrih dupina (*Tursiops truncatus*)<sup>o</sup>

Pb	Mišić	Bubreg	Jetra	Pluća	Slezena	Masno tkivo
<b>Bubreg</b>	0,3237					
<b>Jetra</b>	0,1136*	0,4409				
<b>Pluća</b>	0,3302*	0,4464*	0,2482			
<b>Slezena</b>	0,1422	0,1753	0,2801	0,4615		
<b>Masno tkivo</b>	0,1416*	0,2917	0,1487*	0,3711	0,2294*	
<b>Koža</b>	-0,1142*	-0,0101*	-0,0107*	0,1136*	0,1250*	0,4267

<sup>o</sup>Korišten je neparametrijski Kendall Tau b test za utvrđivanje korelacija sadržaja kadmija između različitih tkiva dobrih dupina (*Tursiops truncatus*)

Oznake u Tablici: \*  $P > 0,05$ ; r: 0-0,2 neznatna povezanost; 0,2-0,4 umjerena povezanost; 0,4-0,7 značajna povezanost; 0,7-1 visoka povezanost

Koncentracija olova u mišićnom tkivu nezavisna je od koncentracije istog metala u ostalim tkivima, osim bubrežnog tkiva i slezene. Vrlo slaba korelacija uočena je između koncentracije olova u koži i ostalih tkiva, osim masnog tkiva s kojim umjereno korelira.





**Tablica 35:** Korelacija sadržaja žive između različitih tkiva dobrih dupina (*Tursiops truncatus*)<sup>o</sup>

Hg	Mišić	Bubreg	Jetra	Pluća	Slezena	Masno tkivo
<b>Bubreg</b>	0,4590					
<b>Jetra</b>	0,5692	0,6333				
<b>Pluća</b>	0,6436	0,5846	0,7308			
<b>Slezena</b>	0,5718	0,5538	0,6282	0,7077		
<b>Masno tkivo</b>	0,3769	0,3590	0,4128	0,4205	0,3744	
<b>Koža</b>	0,5154	0,4051	0,4846	0,5692	0,4256	0,6256

<sup>o</sup>Korišten je neparametrijski Kendall Tau b test za utvrđivanje korelacija sadržaja kadmija između različitih tkiva dobrih dupina (*Tursiops truncatus*)

Oznake u Tablici: \* **P>0,05**; r: 0-0,2 neznatna povezanost; 0,2-0,4 umjerena povezanost; 0,4-0,7 značajna povezanost; 0,7-1 visoka povezanost

Koncentracije žive u različitim tkivima umjereno do jako su međusobno povezane i ne ponašaju se nezavisno jedna od druge, neovisno o tipu promatranog tkiva.



**Tablica 36:** Korelacija sadržaja arsena između različitih tkiva dobrih dupina (*Tursiops truncatus*)<sup>o</sup>

As	Mišić	Bubreg	Jetra	Pluća	Slezena	Masno tkivo
<b>Bubreg</b>	0,6604					
<b>Jetra</b>	0,6441	0,6789				
<b>Pluća</b>	0,6974	0,7099	0,6582			
<b>Slezena</b>	0,6463	0,6744	0,6270	0,6748		
<b>Masno tkivo</b>	0,2519	0,2450	0,3084	<b>0,2329*</b>	0,1856	
<b>Koža</b>	0,4237	0,4742	0,4490	0,4911	0,4220	0,2992

<sup>o</sup>Korišten je neparametrijski Kendall Tau b test za utvrđivanje korelacija sadržaja kadmija između različitih tkiva dobrih dupina (*Tursiops truncatus*)

Oznake u Tablici: \*  $P > 0,05$ ; r: 0-0,2 neznatna povezanost; 0,2-0,4 umjerena povezanost; 0,4-0,7 značajna povezanost; 0,7-1 visoka povezanost

Korelacija između koncentracije arsena u masnom tkivu s koncentracijom u ostalim tkivima je umjerena, a vrijednosti koncentracije međusobno nisu nezavisne, osim kada je u pitanju plućno tkivo. Korelacije između koncentracija u bubregu, mišiću, jetri i plućima su jake i nisu međusobno nezavisne. Korelacije koncentracije arsena u koži s koncentracijama u drugim tkivima umjerene, ali nisu međusobno nezavisne.



**Tablica 37:** Korelacija sadržaja selena između različitih tkiva dobrih dupina (*Tursiops truncatus*)<sup>o</sup>

Se	Mišić	Bubreg	Jetra	Pluća
<b>Bubreg</b>	0,6447			
<b>Jetra</b>	0,6562	0,6866		
<b>Pluća</b>	0,5702	0,4815	0,5556	
<b>Slezena</b>	0,5931	0,5954	0,5670	0,6011

<sup>o</sup>Korišten je neparametrijski Kendall Tau b test za utvrđivanje korelacija sadržaja kadmija između različitih tkiva dobrih dupina (*Tursiops truncatus*)

Oznake u Tablici: \* **P>0,05**; r: 0-0,2 neznatna povezanost; 0,2-0,4 umjerena povezanost; 0,4-0,7 značajna povezanost; 0,7-1 visoka povezanost

Korelacije između koncentracija selena u različitim tkivima su jake bez obzira koja tkiva se međusobno uspoređuju, a koncentracije nisu međusobno nezavisne,

## **4. RASPRAVA**



Koncept morskih organizama kao indikatora („*sentinel*“ vrsta) pruža pristup procjene stanja vodenih ekosustava. Takvi indikatori su barometri za postojeće ili potencijalno negativne učinke na razini zdravlja životinja. S druge strane, pomoću morskih indikatora omogućuje se bolja karakterizacija i upravljanje čimbenicima koji u konačnici utječu na zdravlje životinja i ljudi, a povezani su s morskim okolišem. Morski sisavci su važna indikatorska vrsta toksičnih zagađenja zbog dugog životnog vijeka, dugoročni su obalni stanovnici na vrhu hranidbenog lanca, i imaju jedinstvene masne naslage koje mogu poslužiti kao spremišta za antropogene toksikante. Budući da mnoge vrste morskih sisavaca dijele obalno okruženje s ljudima i konzumiraju istu hranu, oni mogu poslužiti kao učinkoviti indikatori za javnozdravstvene probleme.

U ovom istraživanju analizirani su neesencijalni elementi kadmij, olovo, arsen, živa i esencijalni element selen. Formirana je ekotoksikološka baza podataka koja može pomoći procjeni zdravstvenog stanja zaštićene vrste u Jadranskom moru i dati jasniji uvid u upravljanje morskim ekosustavom. Analizirana su tkiva nasukanih životinja koje nisu nužno u dobrom zdravstvenom stajnu. S obzirom na neesencijalne elemente zanimljivo je promatrati bioakumulaciju jer ovi elementi mogu varirati ovisno o različitim varijablama, kao što su okolišni uvjeti, vremenski period obzirom na godišnje doba, tjelesne karakteristike (ukupna duljina tijela, dob, spol), spolnu zrelost, fiziologiju, reproduktivni status/vrijeme trajanja dojenja, toksikodinamičke i toksikokinetičke procese te prehrabene navike (Caurant i sur., 1994; Das i sur., 2003; Monteiro-Neto i sur., 2003). Koncentracija kontaminanata u tkivima morskih sisavaca varira u prvom redu u odnosu na plijen koji konzumiraju, ali je također bitna njihova sposobnost izlučivanja metala (Aguilar i sur., 1999). Morski sisavci, kao dugoživući predatori na vrhu hranidbenoga lanca, potencijalno su ugroženi neesencijalnim elementima u tragovima, budući da se većina bioakumulira i biomagnificira preko hranidbenog lanca (Law, 1996; Das i sur., 2003). Njihova raspodjela u tkivima slijedi njihove kemijske afinitete. Živa pokazuje više koncentracije u jetri, kadmij se akumulira u bubrezima, a olovo u kostima (Honda i sur., 1982; Andre i sur., 1990a,b).

Stvarni toksični učinci elemenata u tragovima ostaju nejasni jer su morski sisavci bili izloženi spojevima prirodno prisutnim u okolišu dugi niz godina u evolucijskom smislu i kao



takvi razvili mehanizme za kontrolu i/ili ublažavanje njihovih toksičnih učinaka (Law, 1996; Gallien i sur., 2001; Vos i sur., 2003). Kao primjer je postupak detoksikacije metil-žive pomoću selena formiranjem tiemanita (živin selenid) u jetri (Koeman i sur., 1973; Martoja i Berry, 1980) što dovodi do nakupljanja visoke koncentracije žive bez očiglednih toksičnih učinaka (Koeman i sur., 1973; Caurant i sur., 1996).

Zaštićeni status morskih sisavaca ne dopušta analiziranje tkiva unutarnjih organa kako bi se prikupili podaci o koncentracijama metala, osim u slučaju smrti. S kliničke točke gledišta, krv i koža su neinvazivna tkiva koja služe za procjenu zdravlja živih kitova i mogu nam pružiti prehrabene, genetske i toksikološke informacije (Bryan i sur., 2007).

Brojna populacija obalnih dobrih dupina, koju karakterizira njihova vjernost prostoru u kojem obitavaju, podupire značaj dobrog dupina kao indikatora za praćenje prostornih i vremenskih trendova zagađivnja (Fair i Becker, 2000; Wells i sur., 2004; Bossart, 2011).

Dupini i drugi kitovi imaju relativno veliku jetru u odnosu na većinu kopnenih životinja (Slijper, 1962). Postoji nekoliko karakteristika jetre, uključujući veličinu, koje mogu utjecati na visoku razinu potrošnje hrane i brzi metabolizam (Ridgway i Patton, 1971). Ostale fiziološke karakteristike kitova jetre koje se razlikuju od kopnenih sisavaca su neuobičajeno debele stijenke arterija u trijadi, zadebljale stijenke krvnih žila i citoplazmatske sekrecijske vakuole. Ove razlike se povezuju s okolišem u kojem žive i ronjenjem (Cowan, 2002).

U Mediteranu je oskudni broj slučajeva nasukanih jedinki glavatih dupina (*Grampus griseus*) u odnosu na dobre dupine (*Tursiops truncatus*) i plavobijele dupine (*Stenella coeruleoalba*) što umanjuje pristup korisnim podacima o prisutnosti, rasprostranjenosti i navikama tih dupina. Poznato je da je glavati dupin široko rasprostranjen diljem svijetskih oceana, od tropskih do umjereno toplih mora. Voli duboko otvoreno more i njegova prehrana se sastoji uglavnom od liganja i povremeno ribe (Storelli i sur., 1999). Biologija ove vrste vrlo je dobro istražena. Duljina odraslih jedinki u prosjeku iznosi od 2,5 do 3,5 m, a masa od 270 do 350 kg (Notarbartolo Di Sciara i Demma, 1994). Prosječna duljina plavobijelih dupina i glavatih dupina analiziranih u ovom radu slična je onima analiziranim na Mediteranu (Monaci i sur., 1998; Storelli i sur., 1999; Capelli i sur., 2000; Frodello i sur., 2000; Cardellicchio i



sur., 2002) te ih je moguće uspoređivati. S druge strane, prosječna duljina dobrih dupina analiziranih u ovom radu nešto je viša od prosječne duljine analizirane u radovima koji obuhvaćaju područje Mediterana (Rodit-Elasar i sur., 2003; Shoham-Frider i sur., 2009).

#### 4.1. Koncentracije toksičnih metala u tkivima ispitivanih vrsta dupina

Koncentracije kadmija (1,887 mg/kg) u bubregu muških odraslih dobrih dupina (*Tursiops truncatus*) su šest puta viša u odnosu na njihovu koncentraciju u jetri (0,304 mg/kg). Također, koncentracije kadmija u bubrezima odraslih ženki pokazuju isti odnos dok je kod mladunčadi odnos nešto viši. Omjer koncentracija kadmija u bubrezima u odnosu na jetru je znatno manji (oko 2-3 puta) kod plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*) (u bubregu mužjaka 8,679 mg/kg, ženki 4,485 mg/kg i jetri mužjaka 2,639 mg/kg, ženki 2,427 mg/kg), a kod glavatih dupina (*Grampus griseus*) spomenuti omjer iznosi 3,5 (u bubregu 13,793 mg/kg i jetri 3,847 mg/kg). Prema Wagemannu i Muiru (1984) bubreg je kritični organ za akumulaciju kadmija. Oni su utvrdili da kitovi pokazuju 2-5 puta više koncentracije kadmija u bubrežnom tkivu nego u jetri.

Razine kadmija utvrđene ovim istraživanjem slijede trendove zabilježene od strane drugih autora o koncentracijama koje se smanjuju redoslijedom bubreg > jetra > drugi organi. Kadmij se akumulira prvenstveno u bubrezima morskih sisavaca (Thompson, 1990; Law, 1996). Prethodne studije pokazale su da je bubreg ciljni organ za kadmij (Gerpe i sur., 2002) što se povezuje s njegovom ulogom u organizmu, odnosno funkcijom filtriranja i izlučivanja tvari, kao i zbog čvrste veze kadmija s metalotioneinom prisutnim u bubregu (Monaci i sur., 1998; Das i sur., 2000). Razine kadmija u bubregu dobrih dupina (odrasli mužjaci 1,887 mg/kg, odrasle ženke 1,277 mg/kg) su niže od onih u glavatih dupina (13,793 mg/kg) i plavobijelih dupina (mužjaci 8,679 mg/kg, ženke 4,485 mg/kg), a razlog tome je različita količina glavonožaca u njihovoj prehrani. Niske razine kadmija kod dobrih dupina pripisuju se prehrani kojoj dominira riba čiji je sadržaj kadmija nizak (Bustamante, 1998; Lahaye i sur.,

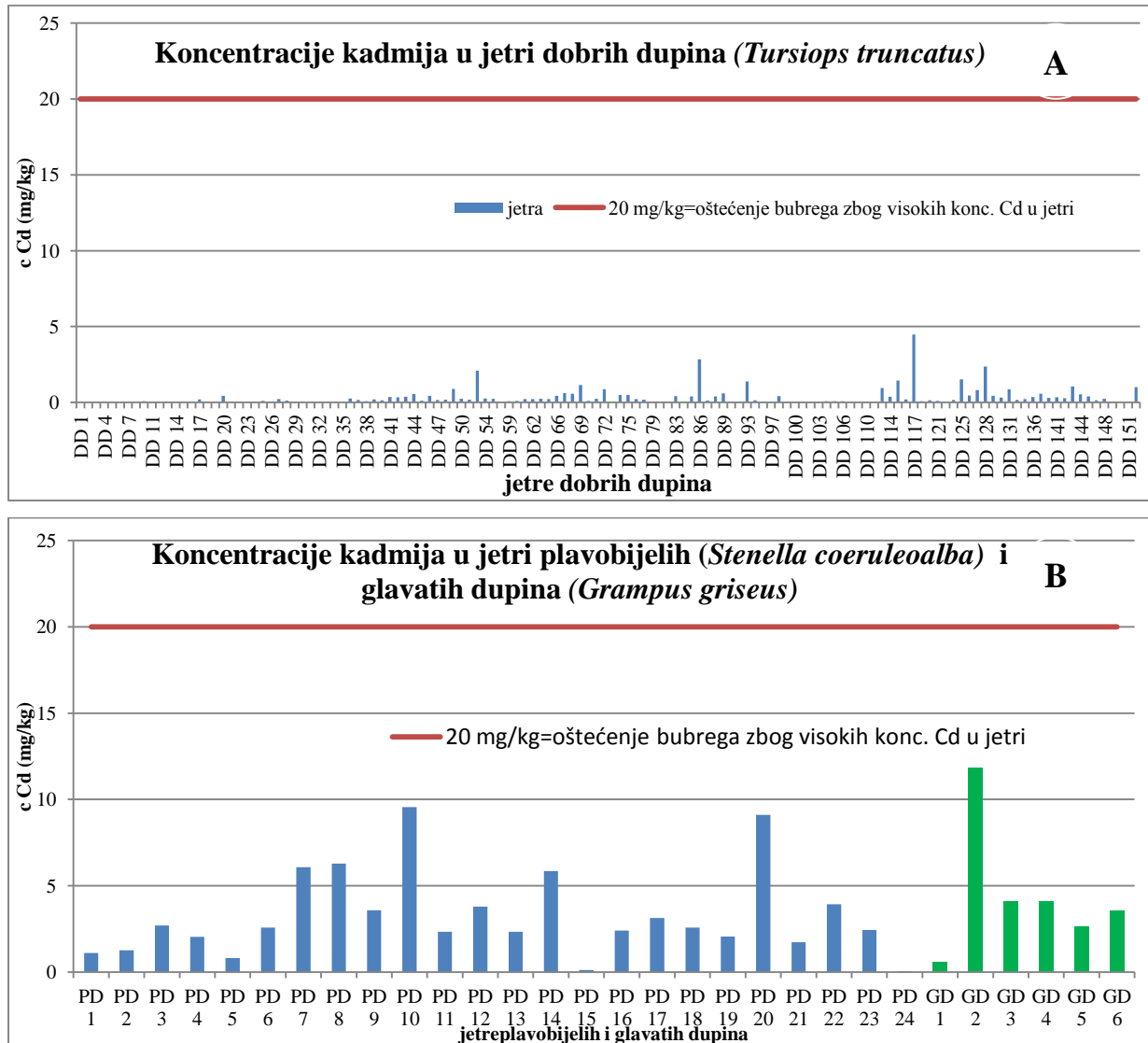


2005). Nasuprot tome, povišene razine kadmija kod plavobijelih dupina potječu od prehrane bazirane na glavonošcima koji predstavljaju glavni izvor kadmija kod kitova (Bustamante, 1998). Isto tako visoke vrijednosti kadmija izmjerene u glavatim dupinima mogu se pripisati znatnoj konzumaciji lignji koje su općenito bogate kadmijem (Storelli i sur., 1999). Kadmij se uglavnom bioakumulira u probavnoj žlijezdi glavonožaca dosežući do 98 % ukupnog udjela metala u nekim vrstama (Bustamante, 1998). Visoka bioraspoloživost kadmija u probavnoj žlijezdi ukazuje na visok potencijal za trofični prijenos ovog metala prema predatorima na vrhu hranidbenog lanca poput morskih sisavaca (Bustamante i sur. 2002). Udio glavonožaca u prehrani plavobijelih dupina Atlantika i Sredozemlja se ne razlikuje što su pokazale analize sadržaja želuca (Ringelstein i sur., 2006). Također je uočeno da mediteranski glavonošci sadrže slične ili čak više razine kadmija u odnosu na atlantske (Lahaye i sur., 2006).

Utvrđene koncentracije kadmija u mišićima znatno su niže od onih izmjerenih u jetri i bubrezima. Niske mišićne i visoke jetrene i bubrežne koncentracije kadmija primjećene su u morskim organizmima, a kao objašnjenje predložen je mehanizam detoksikacije (Raimundo i sur., 2013) vjerojatno povezan s vezanjem kadmija i metalotioneina (Das i sur., 2000). Najveći dio kadmija, odnosno oko 50 % od njegove ukupne količine u organizmu, nalazi se u jetri i bubrezima. U početnom razdoblju jetra ga sadrži znatno više nego bubrezi, no s vremenom pada koncentracija u jetri i raste u bubrezima, posebice u korteksu (Friberg i sur., 1986).

Fujise i sur. (1988) su pokazali da se zatajenje bubrega može pojaviti kod morskih sisavaca s koncentracijama kadmija u jetri  $> 20$  mg/kg mokre težine. Niti jedan od dupina analiziranih u ovom istraživanju nije bio izložen takvim koncentracijama (Slika 19 A i B).





**Slika 19:** Pojedinačne koncentracije kadmija u jetri dobrih - DD (A), plavobijelih – PD i glavatih - GD dupina (B)

Kao i kod bubrega, koncentracije kadmija u jetri više su kod starijih sisavaca (Lavery i sur., 2008; Seixas i sur., 2007).

Uspoređujući vrijednosti kadmija kod dobrih dupina dobivenih u ovom istraživanju s dostupnim podacima o istraživanjima na Mediteranu, koncentracije su približno jednake. Jedino su koncentracije u jetri dupina iz Ligurskog mora nešto više (0,2 mg/kg). Međutim, u



navedenom istraživanju analizirana su samo dva dobra dupina. Kod plavobijelih dupina koncentracije su usporedive s Mediteranskim područjem. Kod glavatih dupina koncentracija kadmija u bubregu dobivenih ovim istraživanjem (13,79 mg/kg) je znatno viša od rezultata dobivenih na jugu Italije, ali usporediva s onima u Ligurskom moru (Tablica 38).

**Tablica 38:** Koncentracije kadmija (izražena kao srednja vrijednost  $\pm$  SD mokre težine) u dupinima na području Mediteranskog mora (faktor konverzije za preračunavanje suhe težine u mokru težinu je 0,25)

Vrsta dupina (broj jedinki)	jetra (mg/kg)	bubreg (mg/kg)	mišić (mg/kg)	slezena/pluća (mg/kg)	Područje/ Razdoblje nalaska	Referenca
Plavobijeli dupin ( <i>Stenella coeruleoalba</i> ) (3)	0,9*	6,5*	0,04*	pluća 0,1*	Ligursko more/1991-2001	<i>Capelli i sur., 2008</i>
Plavobijeli dupin ( <i>Stenella coeruleoalba</i> ) (2)		12,6			Mediteransko more more- Francuska/1999- 2004	<i>Lahaye i sur., 2006</i>
Plavobijeli dupin ( <i>Stenella coeruleoalba</i> ) (10)	1,50 $\pm$ 1,22	6,35 $\pm$ 4,29	0,04 $\pm$ 0,02	pluća 0,1 $\pm$ 0,08	Južna Italija/1991	<i>Cardellicchio i sur., 2002</i>
Plavobijeli dupin ( <i>Stenella coeruleoalba</i> ) (6)	1,75 $\pm$ 1,27	7,02 $\pm$ 4,08	0,04 $\pm$ 0,02	pluća 0,13 $\pm$ 0,08	Južna Italija/1987	<i>Cardellicchio i sur., 2000</i>
Plavobijeli dupin ( <i>Stenella coeruleoalba</i> )(45)	1,1*	6,9*	0,03*		Tirensko i Ligursko more/1987-1994	<i>Monaci i sur., 1998</i>
Plavobijeli dupin ( <i>Stenella coeruleoalba</i> ) (20)	1,0*	2,1*	0,01*		Mediteransko more- Španjolska/1987- 1994	<i>Monaci i sur., 1998</i>
Dobri dupin ( <i>Tursiops truncatus</i> )	<0,04	0,57	<0,04		Izraelska obala	<i>Shoham-Frider i sur., 2009</i>
Dobri dupin ( <i>Tursiops truncatus</i> )(2)	0,8*	1,2*	0,12*	pluća 0,31*	Ligursko more/1999-2002	<i>Capelli i sur., 2008</i>



**Tablica 38.** (Nastavak)

<b>Dobri dupin</b> ( <i>Tursiops truncatus</i> ) (14)	0,49±0,33	0,88±1,7	0,1±0,05		Izraelska obala/1994-2001	<i>Roditi-Elasar i sur., 2003.</i>
<b>Glavati dupin</b> ( <i>Grampus griseus</i> ) (3)	4,4*	8,9*	0,1*	slezena 0,1* pluća 0,1*	Ligursko more/1992-2004	<i>Capelli i sur., 2008</i>
<b>Glavati dupin</b> ( <i>Grampus griseus</i> ) (2)	7,2*	1,6*	0,2*	pluća 0,41*	Južna Italija/1996	<i>Storeli i sur., 1999</i>

\* uzorci preračunati iz suhe težine u mokru težinu

U usporedbi s rezultatima prikupljenim u drugim dijelovima Svijeta koncentracije kadmija u jetri i bubrezima dobrih dupina su usporedive (Tablica 39). Međutim vrijednosti kadmija u jetri australskih dupina pokazuju deset puta višu koncentraciju. Za vrstu plavobijelih dupina rezultati koncentracija kadmija u jetri u ovom istraživanju iznose 2,5 mg/kg dok je koncentracija izmjerena u Japanu viša i iznosi 4,25 mg/kg. Koncentracije kadmija kod glavatih dupina su nešto više u jetri (8,12 mg/kg) i plućima (2,31 mg/kg) izmjerenim u Japanu dok su vrijednosti u bubregu usporedive (Tablica 39).

Više od 50 % izmjerenih vrijednosti za sve tri vrste dupina i ispitivanih tkiva imaju vrijednosti olova manje od 0,1 mg/kg. Koncentracije olova izmjerene u ovom istraživanju bile su najviše u jetri, zatim bubrezima i plućima, a najniže u mišićima. Dosadašnja istraživanja također navode da meka tkiva jetre i bubrega pokazuju više koncentracije olova, a najniže vrijednosti prisutne su u mišićima (Thompson, 1990; Ma, 1996). Koncentracije olova u jetri najviše su kod glavatih dupina, zatim dobrih dupina, a najniže kod plavobijelih dupina. U bubregu su vrijednosti olova također najviše kod glavatih dupina, zatim plavobijelih dupina, a najniže kod dobrih dupina. Kod dobrih dupina koncentracije olova u ispitivanim tkivama, izuzev kože, su više kod ženki u usporedbi s mužjacima. Također i kod plavobijelih dupina vrijednosti olova kod ženki su više u većini ispitivanih tkiva, osim mišića i bubrega.



**Tablica 39:** Koncentracije kadmija (izražena kao srednja vrijednost  $\pm$  SD mokre težine) u dupinima u različitim dijelovima Svijeta (faktor konverzije za preračunavanje suhe težine u mokru težinu je 0,25)

Vrsta dupina (broj jedinki)	jetra (mg/kg)	bubreg (mg/kg)	slezena/pluća (mg/kg)	Područje/ Razdoblje nalaska	Referenca
Plavobijeli dupin ( <i>Stenella coeruleoalba</i> ) (33)	4,25*			Japan/1977-1982	<i>Agusa i sur., 2008</i>
Plavobijeli dupin ( <i>Stenella coeruleoalba</i> ) (13)		10,6 $\pm$ 9,0		Atlantski ocean- Francuska /1999-2004	<i>Lahaye i sur., 2006</i>
Dobri dupin ( <i>Tursiops truncatus</i> ) (8)	0,07*			Južna Karolina/2000- 2008	<i>Stavros i sur., 2011</i>
Dobri dupin ( <i>Tursiops truncatus</i> ) (15)	0,04*			Florida/2000-2008	<i>Stavros i sur., 2011</i>
Dobri dupin ( <i>Tursiops truncatus</i> ) (11)	4,10 $\pm$ 6,18			Australija /1988-2004	<i>Lavery i sur., 2008</i>
Dobri dupin ( <i>Tursiops truncatus</i> ) (25)	0,08*	0,48*		Texas/1991-1992	<i>Meador i sur., 1999</i>
Dobri dupin ( <i>Tursiops truncatus</i> ) (13)	0,4*	1,4*		Florida/1991-1992	<i>Meador i sur., 1999</i>
Glavati dupin ( <i>Grampus griseus</i> ) (7)	8,12*	17,5*	pluća 2,31*	Japan/1999-2001	<i>Endo i sur., 2004</i>

\* uzorci preračunati iz suhe težine u mokru težinu

Obzirom na literaturne podatke o koncentracijama olova u dobrim dupinima na području Mediterana (Tablica 40) koncentracije dobivene ovim istraživanjem podjednake su vrijednosti kao i rezultati olova u dobrim dupinima izmjenjenih u Ligurskom moru (Capelli i sur., 2008). Rasponi koncentracija olova u plavobijelim dupinima u različitim organima



sličnih su vrijednosti od onih analiziranih u Ligurskom moru (Capelli i sur., 2008), ali su i do dvadeset puta niže u odnosu na vrijednosti pronađene kod dupina na jugu Italije (Cardellicchio i sur., 2000, 2002). Olovo je neesencijalni element i više koncentracije mogu se pojaviti kod životinja u neposrednoj blizini antropogenih izvora (Law i sur., 1991). Glavati dupini u odnosu na koncentracije olova dobivene u Ligurskom moru (Capelli i sur., 2008) ne pokazuje velika odstupanja dok u usporedbi s rezultatima s juga Italije (Storelli i sur., 1999) vrijednosti dobivene ovim istraživanjem su i do pet puta više u pojedinim tkivima, npr. u jetri.

**Tablica 40:** Koncentracije olova (izražena kao srednja vrijednost  $\pm$  SD mokre težine) u dupinima na području Mediteranskog mora (faktor konverzije za preračunavanje suhe težine u mokru težinu je 0,25)

Vrsta dupina (broj jedinki)	jetra (mg/kg)	bubreg (mg/kg)	mišić (mg/kg)	slezena/pluća (mg/kg)	Područje/ Razdoblje nalaska	Referenca
Plavobijeli dupin ( <i>Stenella coeruleoalba</i> ) (3)	0,1*	0,07*	0,04*	pluća 0,081*	Ligursko more/1991- 2001	Capelli i sur., 2008
Plavobijeli dupin ( <i>Stenella coeruleoalba</i> ) (10)	0,22 $\pm$ 0,14	0,17 $\pm$ 0,15	0,12 $\pm$ 0,13	pluća 0,21 $\pm$ 0,24	Južna Italija/1991	Cardellicchio i sur., 2002
Plavobijeli dupin ( <i>Stenella coeruleoalba</i> ) (6)	1,05 $\pm$ 0,75	0,44 $\pm$ 0,55	0,41 $\pm$ 0,36	pluća 0,64 $\pm$ 0,49	Južna Italija/1987	Cardellicchio i sur., 2000
Dobri dupin ( <i>Tursiops truncatus</i> ) (2)	0,08*	0,04*	0,3*	pluća < lod	Ligursko more/1999- 2002	Capelli i sur., 2008
Glavati dupin ( <i>Grampus griseus</i> ) (2)	0,5*	0,04*	< lod	slezena 0,068* pluća 0,021*	Ligursko more/1992- 2004	Capelli i sur., 2008
Glavati dupin ( <i>Grampus griseus</i> ) (2)	0,13*	0,11*	0,05*	pluća 0,13*	Južna Italija/1996	Storelli i sur., 1999

\* uzorci preračunati iz suhe težine u mokru težinu



Nakon apsorpcije olovo se nehomogeno raspodjeljuje po cijelom organizmu. Neizlučeni dio apsorbiranog olova raspodjeljuje se između krvi, mekih i mineralnih tkiva (kosti i zubi). Oko 95 % olova u tijelu odraslih osoba nalazi se u kostima, gdje je biološko poluvrijeme raspada oko 30 godina (WHO, 2001b). Zbog navedenog razloga, analiza olova u tkivima kao što su kosti ili zubi treba pružiti informacije o dugoročnim trendovima bioakumulacije tijekom cijelog životnog vijeka kitova (Caurant i sur., 2006).

Uspoređujući vrijednosti olova kod dobrih dupina i glavatih dupina dobivenih u ovom istraživanju s dostupnim podacima na Mediteranu, koncentracije su približno jednake u mišićima, jetri, bubrezima i plućima. Za plavobijele dupine vrijednosti na jugu Italije su nešto više od vrijednosti dobivenih u ovom radu a u Ligurskom moru su približno jednake.

Rezultati utvrđivanja koncentracija olova u jetri i bubregu dobrih dupina i jetri plavobijelih dupina u ovom istraživanju pokazuju slične vrijednosti u odnosu na one promatrane kod dupina u Japanu, Australiji i Americi (Meador i sur., 1999; Agusa i sur., 2008; Stavros i sur., 2011) (Tablica 41). Podaci za glavate dupine nisu bili dostupni.

**Tablica 41:** Koncentracije olova (izražena kao srednja vrijednost  $\pm$  SD mokre težine) u dupinima u različitim dijelovima Svijeta (faktor konverzije za preračunavanje suhe težine u mokru težinu je 0,25)

Vrsta dupina (broj jedinki)	jetra (mg/kg)	bubreg (mg/kg)	Područje/ Razdoblje nalaska	Referenca
Plavobijeli dupin ( <i>Stenella coeruleoalba</i> ) (33)	0,02*		Japan/1977-1982	Agusa i sur., 2008
Dobri dupin ( <i>Tursiops truncatus</i> ) (25)	0,08*	0,04*	Texas/1991-1992	Meador i sur., 1999
Dobri dupin ( <i>Tursiops truncatus</i> ) (13)	0,02*	0,02*	Florida/1991-1992	Meador i sur., 1999



**Tablica 41.** (Nastavak)

<b>Dobri dupin</b> <i>(Tursiops truncatus)</i> (12)	0,01*		Južna Karolina /2000-2008	<i>Stavros i sur., 2011</i>
<b>Dobri dupin</b> <i>(Tursiops truncatus)</i> (15)	0,05*		Florida/2000-2008	<i>Stavros i sur., 2011</i>
<b>Dobri dupin</b> <i>(Tursiops truncatus)</i> (9)	0,074±0,041		Australija /1988-2004	<i>Lavery i sur., 2008</i>

\* uzorci preračunati iz suhe težine u mokru težinu

Arsen ima kompleksnu biogeokemiju u morskom okolišu koja ima značajne utjecaje na njegovu toksičnost u morskim organizama i posljedično ljudima. Toksikološki rizik se pojavljuje zbog anorganskih oblika kojima čovjek može biti izložen u profesionalnim situacijama. U morskom okolišu, tkiva morskih beskralježnjaka i riba sadrže visoke koncentracije arsena (1 do 100 mg/kg suhe mase) u obliku organskih spojeva arsena, posebice arsenobetaina (Neff, 1997).

U tkivima ispitanim na jedinkama dupina pronađenih na hrvatskom dijelu Jadranskog mora koncentracije arsena bile su najviše u masnom tkivu, zatim u jetri i bubrezima. Najniže vrijednosti zabilježene su u mišićima i plućima.

Gotovo sve studije o arsenu usmjerene su na jetru (glavni metabolički organ) morskih sisavaca, ali malo se zna o raspodjeli arsena u drugim tkivima. Ebisuda i sur. (2002) analizirali su arsen u jetri, bubregu, mišićima i masnom tkivu prstenastog tuljana (n = 18) te su kao i u ovom istraživanju utvrđene najviše razine arsena u masnom tkivu, nakon čega slijede jetra i bubreg, a najniže su u mišićima.

Thompson i sur. (1990) utvrdili su da razine arsena kod morskih sisavaca rijetko prelaze 1,0 mg/kg mokre težine u bilo kojem tkivu, a jetrene koncentracije su općenito ispod te razine (Mackay i sur., 1995). Podaci iz ovog istraživanja također slijede navedene tvrdnje. Vjerojatni razlog relativno niskih razina arsena u morskim sisavcima je što je arsen uglavnom



prisutan kao arsenobetain koji ima kratko biološko vrijeme poluraspada u tkivima morskih sisavaca. Međutim, koncentracije u jetri morskih sisavaca razlikuju se po vrstama i ovise o hranidbenim navikama: vrste koje se hrane glavonošcima i rakovima obično sadrže više koncentracije arsena od onih koje konzumiraju ribu (Kubota i sur., 2001).

Iako jetra morskih sisavaca koji su na visokim trofičkim položajima igra važnu ulogu u metabolizmu arsena (Kubota i sur., 2002), median koncentracije arsena u jetri (odrasli mužjak 0,57 mg/kg) i bubregu (odrasli mužjak 0,59 mg/kg) dobrih dupina u ovom istraživanju su slične, što ukazuje kako nema razlike u obrascima akumulacije. Međutim, prethodne su studije pokazale male razlike u koncentracijama arsena između jetre i bubrega u sedlastih tuljana i tuljana mjehuraša (Brunborg i sur., 2006).

Najviše koncentracije arsena izmjerene su kod glavatih dupina (maksimalna koncentracija u jetri mužjaka s otoka Visa iznosila je 12,88 mg/kg), zatim plavobijelih dupina pa dobrih dupina što se slaže s konzumacijom hrane u kojoj su koncentracije arsena u rakovima, glavonošcima i algama više nego u ribama, iako je varijabilnost velika u svakom taksonu (Kubota i sur., 2001). Prehrana glavatih dupina sastoji se prvenstveno od lignji (oko 85 %) i nešto rakova (oko 5%), plavobijelih dupina podjednako od lignji i ribe, ali i 5 % rakova dok 60 % prehrane dobrih dupina čine ribe, samo oko 20 % lignje, a rakovi nisu zabilježeni u njihovoj prehrani (Pauly i sur., 1998). Ovisnost specifične prehrane i akumulacije arsena slična je onoj koja vrijedi za kadmij u morskim sisavcima. Potencijalni rizici povezani s konzumacijom plodova mora koji sadrže arsenobetain (glavni spoj arsena u morskim organizmima) su neznčajni budući da je arsenobetain netoksičan. Kod odraslog čovjeka morski plodovi doprinose 74-96 % (SAD) ukupnog dnevnog unosa arsena, a ostatak čine riža i proizvodi od riže (Tao i Bolger, 1998).

U muškoj populaciji dobrih dupina koncentracije arsena su viših vrijednosti od ženki, izuzev kože. Suprotno tome, koncentracije arsena u ženskoj populaciji plavobijelih dupina imaju više vrijednosti od mužjaka, osim u bubregu i masnom tkivu.





Koncentracije arsena utvrđene ovim istraživanjem su usporedive s literaturnim vrijednostima prethodnih istraživanja (Tablica 42). Budući da se arsen vrlo rijetko analizira u dupinima podaci o koncentracijama na Mediteranu nisu bili dostupni.

**Tablica 42:** Koncentracije arsena (izražena kao srednja vrijednost  $\pm$  SD mokre težine) u dupinima u različitim dijelovima Svijeta (faktor konverzije za preračunavanje suhe težine u mokru težinu je 0,25)

Vrsta dupina (broj jedinki)	jetra (mg/kg)	bubreg (mg/kg)	Područje/ Razdoblje nalaska	Referenca
Dobri dupin ( <i>Tursiops truncatus</i> ) (12)	0,43*		Južna Karolina/2000-2008	<i>Stavros i sur., 2011</i>
Dobri dupin ( <i>Tursiops truncatus</i> ) (15)	0,21*		Florida/2000-2008	<i>Stavros i sur., 2011</i>
Dobri dupin ( <i>Tursiops truncatus</i> ) (25)	0,33	0,38	Texas/1991-1992	<i>Meador i sur., 1999</i>
Dobri dupin ( <i>Tursiops truncatus</i> ) (13)	0,5	-	Florida/1991-1992	<i>Meador i sur., 1999</i>
Glavati dupin ( <i>Grampus griseus</i> ) (30)	0,64*		Japan/1991	<i>Kubota i sur., 2000</i>

\* uzorci preračunati iz suhe težine u mokru težinu

Općenito, anorganski arsen je toksičniji od organskog (Shiomi, 1994). Budući da je arsenobetain dominantan oblik prisutan u većini morskih sisavaca, rizik za ove morske životinje je vrlo nizak, unatoč zadržavanju visokih koncentracija u njihovim tkivima (Kunito i sur., 2008).

Koncentracije žive u jetri morskih sisavaca variraju ovisno o vrsti, zemljopisnom položaju, kao i drugim faktorima. Visoke razine tog metala pronađene su u područjima kontaminiranim industrijskim otpadom kao i u prisutnosti prirodnih izvora (Law, 1996). U



nekoliko radova zabilježene su visoke koncentracije žive u jetri (mg/kg suhe mase) kod dupina nasukanih na različitim lokacijama: Florida (134 mg/kg; raspon: ispod LOD-443 mg/kg; Rawson i sur., 1993), Atlantik uz francusku obalu (46 mg/kg; raspon 24-783 mg/kg; Holsbeek i sur., 1998), Tirensko more (270 mg/kg; raspon 12-13155 mg/kg, Leonzio i sur., 1992) i izraelski dio Mediteranskog mora (671 mg/kg; raspon 4-2210 mg/kg; Roditi-Elasar i sur., 2003).

Jetra je najvažniji organ za akumulaciju žive kod kitova (Wagemann i Muir, 1984) i u njoj su u prethodnim istraživanjima utvrđene najviše koncentracije žive, čije vrijednosti dosežu više od 2000 mg/kg suhe težine. Literaturni podaci ukazuju na vrijednosti u rasponu od 4250-13155 mg/kg suhe težine u dobrim dupinima (Leonzio i sur., 1992; Frodello i sur., 2000) i 3298-5304 mg/kg suhe težine u glavatim dupinima (Storelli i sur., 1999; Frodello i sur., 2000; Shoham-Frider i sur., 2002).

Najviše vrijednosti žive u ovom istraživanju pronađene su u jetri glavatih dupina nakon čega slijede dobri dupini i najniže u jetri plavobijelih dupina. S obzirom na tkivo najviše koncentracije kod dobrih dupina kretale su se redosljedom jetra>bubreg>slezena dok je u ostale dvije vrste poredak bio jetra>slezena>pluća>bubreg. Koncentracije žive u slezeni i plućima znatno su više kod plavobijelih dupina u odnosu na dobre dupine. Međutim koncentracije žive u plućima i slezeni glavatih dupina u usporedbi s plavobijelim dupinima višestruko su više. Iz rezultata ovog istraživanja može se primijetiti da mlade jedinke dupina pokazuju značajno niže koncentracije žive nego odrasle jedinke, što upućuje na veliki utjecaj životne dobi na akumulaciju žive. Istu stvar uočili su Shoham-Frider i sur. (2002) kod dobrih dupina na mediteranskoj obali Izraela. Također, izmjerene su više koncentracije žive kod ženki dobrih dupina i plavobijelih dupina. Koncentracije žive u jetri plavobijelih dupina u ovom istraživanju su malo niže od prikupljenih podataka na Mediteranu, dok su koncentracije u ostalim analiziranim tkivima usporedive. U jetri dobrih dupina koncentracije žive utvrđene u kitovima pronađenih uz izraelsku obalu su niže u odnosu na hrvatski dio Jadranskog mora dok su u Ligurskom moru znatno više u svim tkivima. Međutim, u navedenom istraživanju analizirana su samo dva dobra dupina od kojih je kod jednog dupina koncentracije žive bila niska, a u drugom visoka. Koncentracije žive u ispitivanim tkivima glavatih dupina također su



niže u kitovima pronađenim u izraelskim morskim vodama. Na jugu Italije rezultati su usporedivi, osim u plućima gdje su izmjerene visoke vrijednosti žive u odnosu na ovo istraživanje, dok su rezultati žive u jetri i slezeni glavatih dupina u Ligurskom moru znatno niže (Tablica 43).

Koncentracije žive u dupinima su više nego kod dugovječnih morskih predatora poput tune ili morskih pasa (Storelli i sur., 2002a,b), najvjerojatnije kao posljedica njihovog svojstvenog izdvajanja žive iz organskog u anorganski oblik i usporedno slabije sposobnosti izlučivanja (Monaci i sur., 1998). Ekstremno visoke koncentracije žive pronađene su u jetri dupina s mediteranske obale Francuske i Italije (Andre i sur., 1991; Storelli i sur., 1998). Više koncentracije žive u mediteranskim organizmima u pravilu se objašnjavaju visokim temperaturama i nedostatku sunčevog zračenja u dubokim predjelima koji pogoduje visokoj brzini metilacije. Nadalje, osim kontaminacije industrijskog porijekla, prirodni izvori žive u Sredozemnom moru mogu doprinijeti živinom nakupljanju kroz bentički prehrambeni lanac, jer predstavljaju najbogatiji prirodni rezervat tog elemenata (Bacci, 1989).

Vrlo malo istraživanja bavilo se ispitivanjem koncentracija žive u plućima kitova. Augier i sur. (1993a) postavili su hipotezu da živa može prodrijeti iz atmosfere u pluća, što bi djelomično moglo objasniti relativno visoke vrijednosti pronađene u ovom organu. U njihovom istraživanju koncentracije u plućima plavobijelih dupina kretale su se u rasponu od 3-396 mg/kg suhe mase, odnosno 0,75-99 mg/kg mokre težine. U ovom istraživanju koncentracije u plućima mužjaka plavobijelih dupina kretale su se u rasponu od 1,79-60,03 mg/kg, a ženki od 0,07-78,60 mg/kg. U plućima glavatih dupina maksimalna koncentracija iznosila je 101,85 mg/kg, a medijan 68,92 mg/kg. Pluća dobrih dupina su također sadržavala visoke koncentracije žive, čak i kod mladunčadi. Maksimalna vrijednost izmjerena je kod muškog mladunčeta, a iznosi čak 460 mg/kg. Međutim, disperzija rezultata je velika tako da su medijan koncentracije u odraslim jedinkama 4,6 mg/kg, a kod mladunčadi ispod 1 mg/kg.



**Tablica 43:** Koncentracije žive (izražena kao srednja vrijednost  $\pm$  SD mokre težine) u dupinima na području Mediteranskog mora (faktor konverzije za preračunavanje suhe težine u mokru težinu je 0,25)

Vrsta dupina (broj jedinki)	jetra (mg/kg)	bubreg (mg/kg)	mišić (mg/kg)	slezena/pluća (mg/kg)	Područje/ Razdoblje nalaska	Referenca
Plavobijeli dupin ( <i>Stenella coeruleoalba</i> ) (3)	79,1*	9,3*	7*	pluća 25,6*	Ligursko more/1991-2001	Capelli i sur., 2008
Plavobijeli dupin ( <i>Stenella coeruleoalba</i> ) (10)	170,76 $\pm$ 138, 90	8,99 $\pm$ 6,84	8,61 $\pm$ 9,31	pluća 14,52 $\pm$ 12,4	Južna Italija/1991	Cardellicchio i sur., 2002
Plavobijeli dupin ( <i>Stenella coeruleoalba</i> ) (18)	151,3*	14,5*	16,5*	slezena 87,3* pluća 29,8*	Ligursko more/ 1986-1990	Capelli i sur., 2000
Plavobijeli dupin ( <i>Stenella coeruleoalba</i> ) (6)	189,16 $\pm$ 28,5 5	10,30 $\pm$ 2,16	10,87 $\pm$ 2,47	pluća 28,68 $\pm$ 14,23	Južna Italija/1987	Cardellicchio i sur., 2000
Plavobijeli dupin ( <i>Stenella coeruleoalba</i> ) (45)	148*	11*	13*		Tirensko i Ligursko more/1984-1997	Monaci i sur., 1998
Plavobijeli dupin ( <i>Stenella coeruleoalba</i> ) (20)	261*	15,7*	7*		Mediteransko more- Španjolska/1984- 1997	Monaci i sur., 1998
Plavobijeli dupin ( <i>Stenella coeruleoalba</i> )	17-568*	3,5-85*	2-39*		Francuska mediteranska obala	Augier i sur., 1993a
Plavobijeli dupin ( <i>Stenella coeruleoalba</i> )	3,15-1100*	1,45-51*	10-42*		Tirensko more	Leonzio i sur., 1992
Plavobijeli dupin ( <i>Stenella coeruleoalba</i> ) (4)	373 $\pm$ 454				Mediteransko more more- Francuska/1999- 2004	Lahaye i sur., 2006



Tablica 43. (Nastavak)

<b>Dobri dupin</b> ( <i>Tursiops truncatus</i> ) (15)	0,336	0,029	0,028		hrv. dio Jadranskog mora 1990-1999	<i>Pompe-Gotal i sur., 2009</i>
<b>Dobri dupin</b> ( <i>Tursiops truncatus</i> )	35,6±51,5	6,7±7,1	1,12±1,19		Izraelska obala	<i>Shoham-Frider i sur., 2009</i>
<b>Dobri dupin</b> ( <i>Tursiops truncatus</i> ) (2)	468,8*	36,7*	21*	pluća 17,2*	Ligursko more/1999-2002	<i>Capelli i sur., 2008</i>
<b>Dobri dupin</b> ( <i>Tursiops truncatus</i> ) (14)	97±149	8,8±9,3	8,9±12		Izraelska obala/1994-2001	<i>Roditi-Elasar i sur., 2003.</i>
<b>Dobri dupin</b> ( <i>Tursiops truncatus</i> )	3-3 289*	1,7-221*	1,2-73*		Tirensko more	<i>Leonzio i sur., 1992</i>
<b>Glavati dupin</b> ( <i>Grampus griseus</i> ) (3)	408,1	12,1	22,7	slezena 73,1 pluća 33,2	Ligursko more/1992-2004	<i>Capelli i sur., 2008</i>
<b>Glavati dupin</b> ( <i>Grampus griseus</i> ) (3)	14,3	7,63	0,61		Izraelska obala/1993-1999	<i>Shoham-Frider i sur., 2002</i>
<b>Glavati dupin</b> ( <i>Grampus griseus</i> ) (2)	740,2	54,4	28,7	pluća 208,4	Južna Italija/1996	<i>Storeli i sur., 1999</i>

\* uzorci preračunati iz suhe težine u mokru težinu

Koncentracije žive u jetri plavobijelih dupina utvrđene u ovom istraživanju slične su rezultatima istraživanja ove vrste u Japanu (Tablica 44), a vrijednosti u tkivima glavatih dupina, također iz Japana, višestruko su niže nego u hrvatskom dijelu Jadranskog mora.



**Tablica 44:** Koncentracije žive (izražena kao srednja vrijednost  $\pm$  SD mokre težine) u dupinima u različitim dijelovima Svijeta (faktor konverzije za preračunavanje suhe težine u mokru težinu je 0,25)

Vrsta dupina (broj jedinki)	jetra (mg/kg)	bubreg (mg/kg)	slezena/pluća (mg/kg)	Područje/ Razdoblje nalaska	Referenca
Plavobijeli dupin ( <i>Stenella coeruleoalba</i> ) (33)	107,5*			Japan /1977-1982	<i>Agusa i sur., 2008</i>
Plavobijeli dupin ( <i>Stenella coeruleoalba</i> ) (13)	138 $\pm$ 92			Atlantski ocean- Francuska /1999-2004	<i>Lahaye i sur., 2006</i>
Dobri dupin ( <i>Tursiops truncatus</i> ) (8)	8,58*			Južna Karolina /2000-2008	<i>Stavros i sur., 2011</i>
Dobri dupin ( <i>Tursiops truncatus</i> ) (15)	75*			Florida /2000-2008	<i>Stavros i sur., 2011</i>
Dobri dupin ( <i>Tursiops truncatus</i> ) (10)	213,94 $\pm$ 241,33			Australija /1988-2004	<i>Lavery i sur., 2008</i>
Dobri dupin ( <i>Tursiops truncatus</i> ) (25)	53*	8,25*		Texas /1991-1992	<i>Meador i sur., 1999</i>
Dobri dupin ( <i>Tursiops truncatus</i> ) (13)	76*	17*		Florida /1991-1992	<i>Meador i sur., 1999</i>
Glavati dupin ( <i>Grampus griseus</i> ) (7)	232*	17,2*	pluća 41,2*	Japan /1999-2001	<i>Endo i sur., 2004</i>

\* uzorci preračunati iz suhe težine u mokru težinu

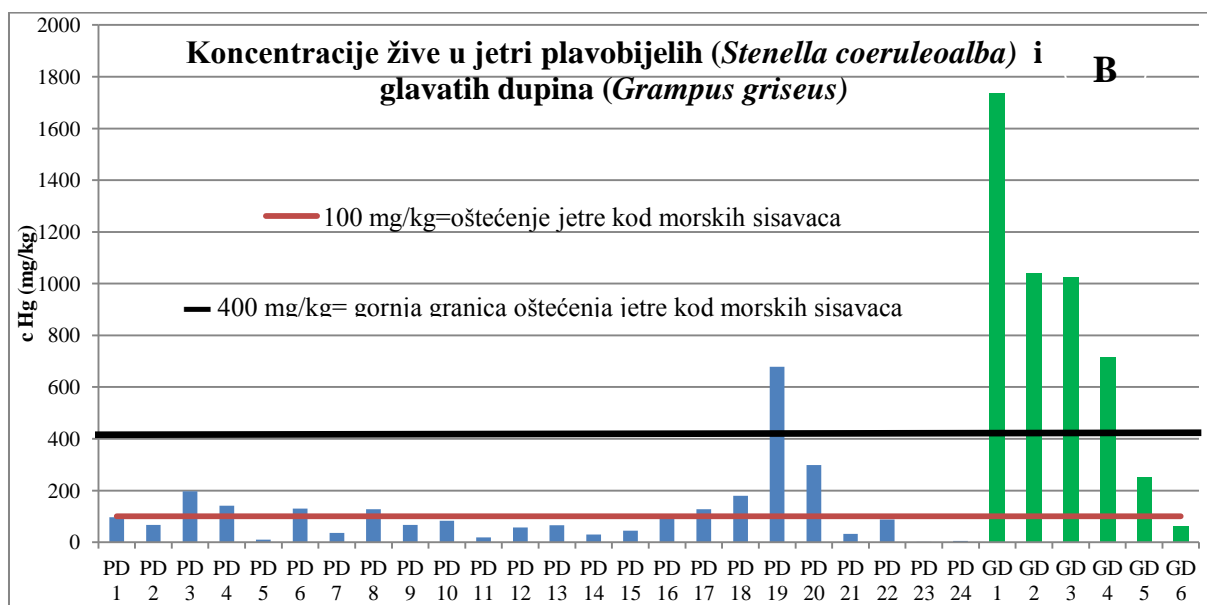
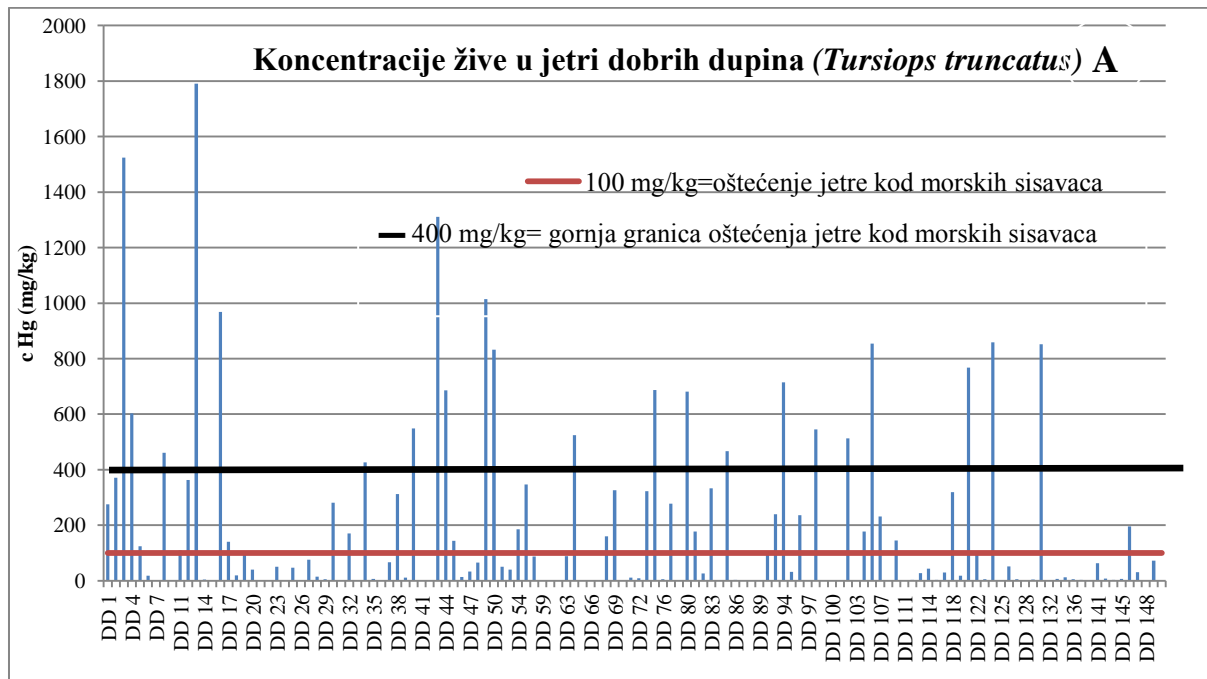
Koncentracije žive u jetri dobrih dupina izmjerenim u Atlantskom oceanu višestruko su niže nego u hrvatskom dijelu Jadranskog mora, dok su usporedive s rezultatima dobivenim kod australskih dupina. Plavobijeli dupini koji se hrane plijenom iz Sredozemnog mora imaju više razine žive u tkivima od iste vrste s Atlantske obale, jer su u Sredozemnom moru



koncentracije žive u fauni njihovog prehranbenog lanca povišene (Lahaye i sur., 2006). Na temelju niza istraživanja zaključeno je da je općenito konzumacija kontaminirane ribe dominantni put izloženosti i akumulaciji žive kod životinja u prirodi, ali i u ljudskoj populaciji (USEPA, 2006).

Referentne vrijednosti za toksičnost u kritičnim organima mogu biti korisne u procjeni potencijalnog toksikološkog rizika u dupinima. Slika 20 A i B prikazuju koncentracije žive u jetri dupina i procijenjene granice (100-400 mg/kg mokre težine) kod kojih dolazi do oštećenja jetre u tkivu morskih sisavaca (Wagemann i Muir, 1984).

U velikom broju jedinki utvrđene su koncentracije žive u jetri, koje prelaze donju kritičnu razinu (100 mg/kg) u sve tri vrste dupina. Kod glavatih dupina čak u 5 od ukupno 6 jedinki (83,37 %) utvrđene su više vrijednosti. Kod plavobijelih dupina 37,5 % uzoraka jetre prelazi kritičnu vrijednost, dok je kod dobrih dupina 32,7 %. Gornju kritičnu razinu koncentracije žive u jetri (400 mg/kg) prelazi 15,3 % jedinki dobrih dupina, 66,6 % glavatih dupina i jedan plavobijeli dupin. Međutim, u tom rasponu koncentracija Rawson i sur. (1993) su otkrili kod dobrih dupina abnormalnosti u jetri povezane s kroničnom akumulacijom žive. Zanimljivo je da će kopneni sisavci s koncentracijom žive od 30 mg/kg mokre težine u jetri vjerojatno patiti od intoksikacije živom (Thompson, 1996), iako je to znatno niža razina od procijenjene granice od 100-400 mg/kg mokre težine koja izaziva oštećenja u morskih sisavaca (Wagemann i Muir, 1984). Abnormalnosti jetre koje se sastoje od lipofuscinoze, središnje nekroze i limfocitne infiltracije povezuju se s kroničnom akumulacijom žive u koncentraciji višoj od 60 mg/kg mokre težine kod dobrih dupina iz Atlanskog mora (Rawson i sur., 1993) te kod *Mesoplodon densirostris* s koncentracijom od 248 mg/kg mokre težine (Law i sur., 1997).



**Slika 20:** Pojedinačne koncentracije žive u jetri dobrih (*Tursiops truncatus*) - DD (A), plavobijelih (*Stenella coeruleoalba*) – PD i glavatih (*Grampus griseus*) - GD dupina (B) u odnosu na kritičnu koncentraciju od 100 mg/kg





Osim toga, razina žive pronađene u dupinima su više od onih pronađenih kod dugovječnih morskih predatora poput tune ili morskih pasa (Storelli i sur., 2002a,b), vjerojatno zbog njihovog svojstvenog načina izdvajanja žive u anorganski oblik i relativno slabije sposobnosti izlučivanja žive (Monaci i sur., 1998).

Selen je za razliku od ostalih ispitivanih metala, ovisno o koncentraciji, i esencijalni i toksični element, a djeluje kao antagonist u odnosu na toksičnost više teških metala (Lemly, 1996). Poznato je da su u morskim sisavcima prisutne visoke koncentracije selena u jetri i bubrezima, jer je taj element uključen u mehanizam detoksikacije teških metala, kao što su živa, olovo i kadmij (Arai i sur., 2004).

Koncentracije selena u jetri, bubregu i plućima plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*) u ovom istraživanju su usporedive s vrijednostima prikupljenim na Mediteranu. Jedino koncentracije selena u bubregu u španjolskom dijelu Mediteranskog mora pokazuju povišenu vrijednost u odnosu na ostale. U jetri i bubregu dobrih dupina (*Tursiops truncatus*) koncentracije selena pronađene u hrvatskom dijelu Jadranskog mora su usporedive s onima u Ligurskom moru za razliku od pluća gdje su u Ligurskom moru izmjerene više vrijednosti. Međutim, usporedba je izvršena na analizi dva uzorka dupina iz Ligurskog mora. Koncentracije selena u jetri glavatih dupina (*Grampus griseus*) dvostruko su više u hrvatskom dijelu Jadranskog mora u odnosu na Ligursko more i jug Italije, međutim, u bubregu i plućima koncentracije su usporedive (Tablica 45).

Koncentracije selena u jetri plavobijelih dupina i dobrih dupina znatno su više u ovom istraživanju od dostupnih podataka o istraživanjima u Japanu, Australiji i Americi. Koncentracije u bubregu dobrih dupina su usporedive s onima dobivenim u Teksasu i Floridi (Tablica 46).



**Tablica 45:** Koncentracije selena (izražena kao srednja vrijednost  $\pm$  SD mokre težine) u dupinima na području Mediteranskog mora (faktor konverzije za preračunavanje suhe težine u mokru težinu je 0,25)

Vrsta dupina (broj jedinki)	jetra (mg/kg)	bubreg (mg/kg)	pluća (mg/kg)	Područje/ Razdoblje nalaska	Referenca
Plavobijeli dupin ( <i>Stenella coeruleoalba</i> ) (3)	37,5*	6,4*	9,4*	Ligursko more/1991-2001	<i>Capelli i sur., 2008</i>
Plavobijeli dupin ( <i>Stenella coeruleoalba</i> ) (10)	63,18 $\pm$ 50,52	7,68 $\pm$ 3,06	5,47 $\pm$ 3,04	Južna Italija	<i>Cardellicchio i sur., 2002</i>
Plavobijeli dupin ( <i>Stenella coeruleoalba</i> ) (18)	57,8*	7,25*	12,3*	Ligursko more	<i>Capelli i sur., 2000</i>
Plavobijeli dupin ( <i>Stenella coeruleoalba</i> ) (42)	66,5*	6,5*		Tirensko i Ligursko more/1987-1994	<i>Monaci i sur., 1998</i>
Plavobijeli dupin ( <i>Stenella coeruleoalba</i> ) (20)	25,2*	12,8*		Mediteransko more- Španjolska/1987- 1994	<i>Monaci i sur., 1998</i>
Dobri dupin ( <i>Tursiops truncatus</i> ) (2)	214,6*	13,6*	6,4*	Ligursko more/1999-2002	<i>Capelli i sur., 2008</i>
Glavati dupin ( <i>Grampus griseus</i> ) (3)	217,8*	8,2*	21,9*	Ligursko more/1992-2004	<i>Capelli i sur., 2008</i>
Glavati dupin ( <i>Grampus griseus</i> ) (2)	189,9*	16,5*	45,1*	Južna Italija/1996	<i>Storeli i sur., 1999</i>

\* uzorci preračunati iz suhe težine u mokru težinu



**Tablica 46:** Koncentracije selena (izražena kao srednja vrijednost  $\pm$  SD mokre težine) u dupinima u različitim dijelovima Svijeta (faktor konverzije za preračunavanje suhe težine u mokru težinu je 0,25)

Vrsta dupina (broj jedinki)	jetra (mg/kg)	bubreg (mg/kg)	Područje/ Razdoblje nalaska	Referenca
<b>Plavobijeli dupin</b> ( <i>Stenella coeruleoalba</i> ) (33)	35,0*		Japan/1977-1982	<i>Agusa i sur., 2008</i>
<b>Dobri dupin</b> ( <i>Tursiops truncatus</i> ) (12)	3,63*		Južna Karolina/2000- 2008	<i>Stavros i sur., 2011</i>
<b>Dobri dupin</b> ( <i>Tursiops truncatus</i> ) (15)	27,25*		Florida/2000-2008	<i>Stavros i sur., 2011</i>
<b>Dobri dupin</b> ( <i>Tursiops truncatus</i> ) (11)	70,19 $\pm$ 82,27		Australija/1988-2004	<i>Lavery i sur., 2008</i>
<b>Dobri dupin</b> ( <i>Tursiops truncatus</i> ) (25)	31*	2,53*	Texas/1991-1992	<i>Meador i sur., 1999</i>
<b>Dobri dupin</b> ( <i>Tursiops truncatus</i> ) (13)	16,25*	5,5*	Florida/1991-1992	<i>Meador i sur., 1999</i>

\* uzorci preračunati iz suhe težine u mokru težinu



#### 4.2. Hg-Se detoksikacijski mehanizam u dupinima

Trend porasta molarnog omjera Hg:Se s porastom koncentracije žive odražava detoksikaciju metil-žive akumulirane prehranom i njezine imobilizacije u oblik živinog selenida (Law, 1996). Molarni omjer žive i selenida zabilježen kod morskih sisavaca uglavnom je približno 1. Međutim, Hg:Se molarni omjeri pronađeni u jetri mogu varirati u rasponu od 0,2 (Hansen i sur., 1990) do 2,49 (Caurant i sur., 1996). U Tablici 47 prikazani su molarni odnosi Hg i Se u jetrama dupina utvrđenim u drugim istraživanjima. Razlike u metabolizmu između pojedinih vrsta kitova mogu utjecati na nakupljanje žive i selenida, što se odražava različitim Se:Hg molarnim omjerima (Seixas i sur., 2007).

**Tablica 47:** Literaturni podaci o molarnom odnosu Hg i Se u jetri dupina

Vrsta dupina	Molarni odnos Hg:Se jetra	Molarni odnos Se:Hg jetra	Referenca
<b>La Plata riječni dupin</b> ( <i>Pontoporia blainvillei</i> )		4	<i>Seixas i sur., 2007.</i>
<b>La Plata riječni dupin</b> ( <i>Pontoporia blainvillei</i> )		8	<i>Kunito i sur., 2004.</i>
<b>Plavobijeli dupin</b> ( <i>Stenella coeruleoalba</i> )		1,2	<i>Capelli i sur., 2000.</i>
<b>Dobri dupin</b> ( <i>Tursiops truncatus</i> )		0,83	<i>Nigro i Leonizio, 1996.</i>
<b>Glavati dupin</b> ( <i>Grampus griseus</i> )		0,93	<i>Nigro i Leonizio, 1996.</i>



**Tablica 47.** (Nastavak)

<b>Plavobijeli dupin</b> ( <i>Stenella coeruleoalba</i> )	0,8		<i>Monaci i sur., 1997.</i>
<b>Glavati dupin</b> ( <i>Grampus griseus</i> )	1,38		<i>Shoham-Frider i sur., 2002.</i>
<b>Glavati dupin</b> ( <i>Grampus griseus</i> )	1,48		<i>Storelli i sur., 1999.</i>
<b>Plavobijeli dupin</b> ( <i>Stenella coeruleoalba</i> )	1,03		<i>Law i sur., 2001.</i>
<b>Glavati dupin</b> ( <i>Grampus griseus</i> )	0,22		<i>Law i sur., 2001.</i>
<b>Plavobijeli dupin</b> ( <i>Stenella coeruleoalba</i> )	0,915		<i>Mendez-Fernandez i sur., 2014.</i>
<b>Dobri dupin</b> ( <i>Tursiops truncatus</i> )	0,964		<i>Mendez-Fernandez i sur., 2014.</i>
<b>Glavati dupin</b> ( <i>Grampus griseus</i> )	≈1		<i>Capelli i sur., 2008.</i>

U jetri *Phocoenoides Dalli* Hg/Se molarni omjer je oko 1,0 pod uvjetom da je u jetri ukupna koncentracija živa najmanje 20-30 mg/kg suhe težine (Yang i sur., 2007). Hg:Se odnos je blizu 1 kod odraslih norveških tuljana, uz uvjet da su koncentracije žive u tkivu veće od 15 mg/kg mokre težine (Skaare i sur., 1994).

U ovom istraživanju Hg:Se molarni odnos u jetri odraslih dobrih dupina (*Tursiops truncatus*) pokazuje očekivane vrijednosti (0,87), dok jetra mladih dobrih dupina pokazuje visoki omjer (0,78), netipičan za dobnu skupinu. Kod mladih životinja dobrih dupina utvrđen je znatno niži omjer žive i selena (0,2-0,4) (Stavros i sur., 2011). Molarni odnos žive i selena

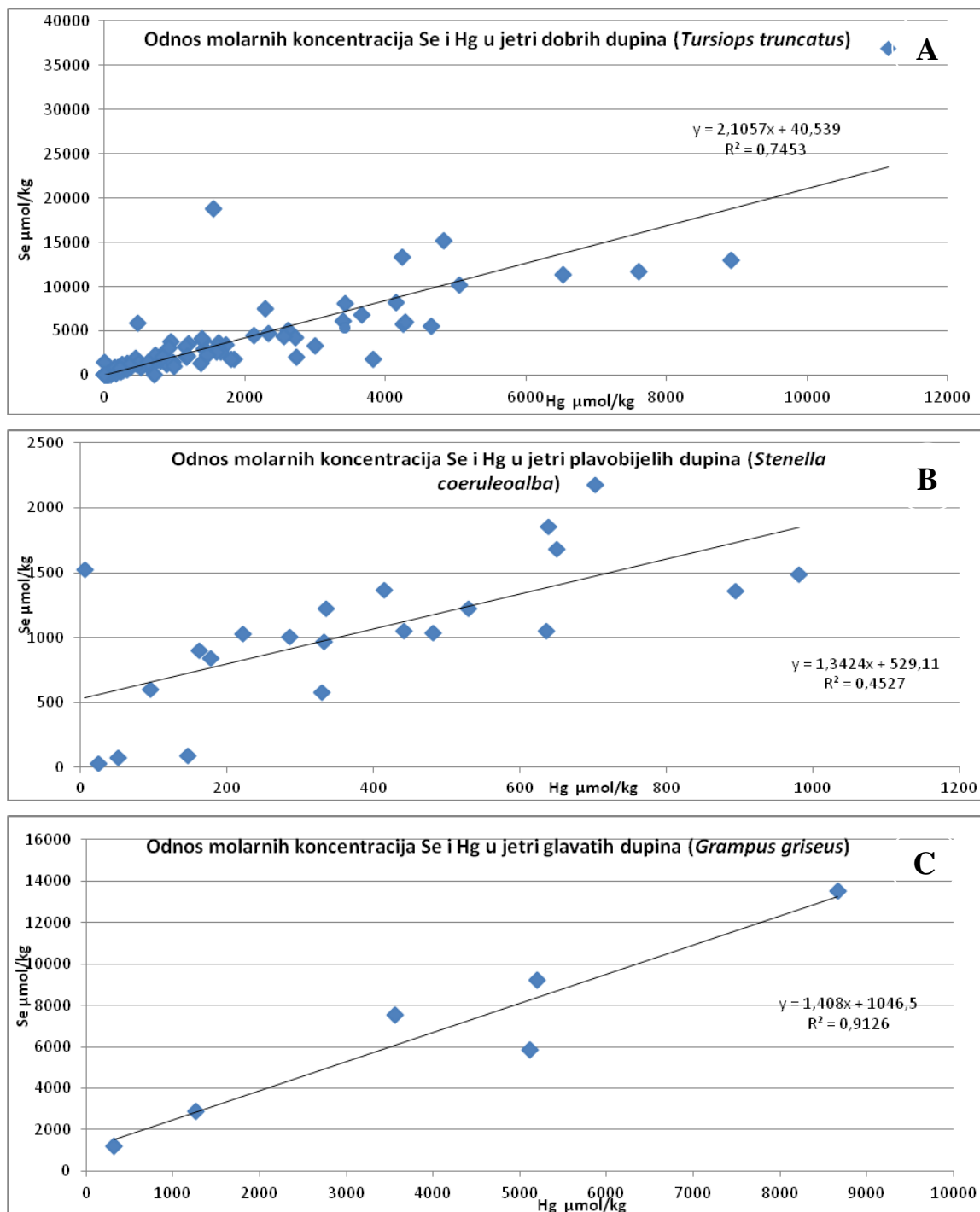


u jetri glavatih dupina (*Grampus griseus*) iznosi 0,67. Hg:Se molarni odnos u jetri plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*) iznosi 0,39 što je niže od vrijednosti dobivenih u dostupnim radovima. Uočeno je da su koncentracije selena, cinka, kao i Hg:Se omjeri bili značajno viši kod obalnih dupina (*Phocoena phocoena*) koje su uginuli od zaraznih bolesti u odnosu na one pojedince koji su umrli od posljedica fizičke traume. Također je dokazano da su razine žive značajno više kod životinja uginulih od infekcija. (Bennet i sur., 2001). U ovom istraživanju su također konc. žive bile dvostruko veće kod plavobijelih dupina u kojima je zabilježena jaka parazitska invazija od onih uginulih zbog vatrenog oružja, slučajnog ulova i nepoznatog uzroka. Isto tako u radovima je zabilježeno da je molarni omjer Hg:Se u morskim sisavcima uginulim zbog fizičke traume oko 0,4 što je slučaj i u ovom istraživanju.

Prema Ikemotu (2004), Se/Hg molarni omjer je blizu jedan samo kod morskih sisavaca kojima su jetrene koncentracije žive više od 200 mg/kg suhe težine. Prema Palmisanu i sur. (1995) u jetri plavobijelih dupina molarni omjer Hg/Se je oko 1,0 kada je koncentracija žive viša od 100 mg/kg Hg mokre težine. Medijan vrijednost žive u jetri kod mužjaka iznosi 67 mg/kg, a ženki 97 mg/kg. Rawson i sur. (1995) su otkrili da je živa selenid prisutna osim u jetri, i u dišnom sustavu dobrog dupina i bjeloleđeg dupina (*Globicephala macrorhynchus*). Molarni odnosi Hg:Se u plućima odraslih dobrih dupina iznosi 0,72, a kod mladih dobrih dupina 0,22. Kod plavobijelih dupina i glavatih dupina omjer Hg:Se u plućima je podjednak i iznosi 0,5.

Anorganska živa i selen se u kompleksu nalaze u molarnom omjeru 1:1 u formi biološki nedostupnoj morskim sisavcima, čime se značajno smanjuje rizik od živine toksikoze kod jedinki s povišenim sadržajem žive u tijelu (Nielsen i Dietz, 1990). Koncentracije žive u jetri majke tuljana, ali ne i mladunčadi, pokazuju pozitivnu korelaciju s koncentracijama selena (Wagemann i sur., 1988).

Na slikama 21 A-C prikazani su molarni odnosi žive i selena u jetri ispitivanih dupina.



Slika 21: Molarni odnosi žive i selena u jetri dobrih dupina (*Tursiops truncatus*)-A, plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*)-B i glavatih dupina (*Grampus griseus*)-C



#### 4.3. Utjecaj ispitivanih faktora na koncentracije metala u tkivima dupina

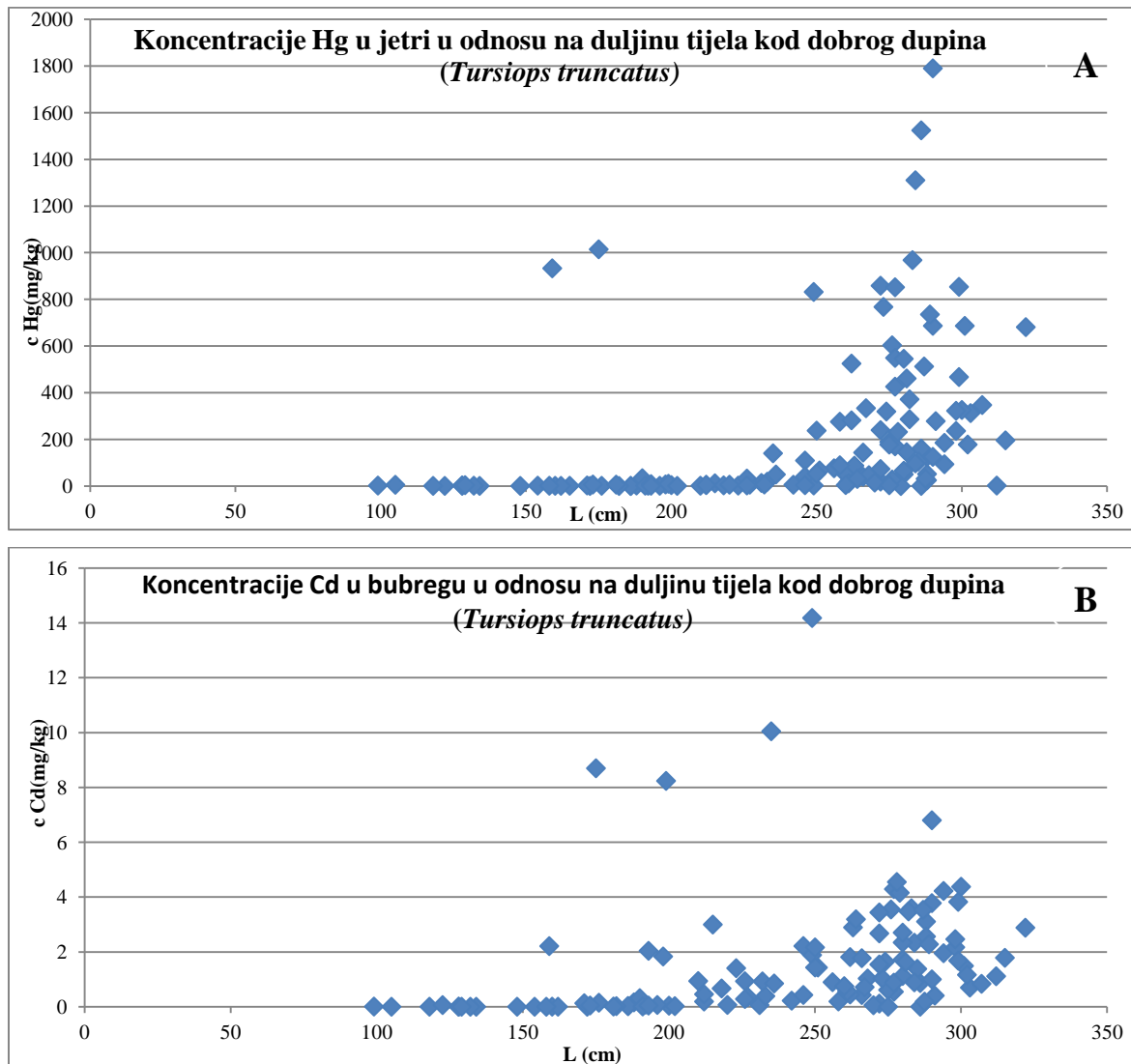
Na akumulaciju metala utječe dob, duljina, težina, spol i područje u kojem obitavaju dupini (Andre i sur., 1991; Itano i sur., 1984a,b).

Spol je biološki čimbenik koji može utjecati na opterećenje metalom kod morskih sisavaca, posebno tijekom reproduktivnih aktivnosti, kao što su trudnoća, porođaj i dojenje (Honda i sur., 1987). Pitanja o utjecaju spola je raspravljano od strane različitih autora (Honda i sur., 1983; Wageman i sur., 1983). Ustanovljeno je da su ženke manje od mužjaka i da različita fiziologija može utjecati na resorpciju i/ili eliminaciju metala. Na primjer, jedinke ženskog spola mogu iz svog organizma eliminirati živu tijekom trudnoće (Jernelov, 1986) ili dojenjem (WHO, 1976). Osim toga, razlike u preferencijama plijena u ishrani ženki i mužjaka mogu utjecati na unos metala (Gochfeld, 1997). Međutim, utjecaj spola na koncentracije metala izmjerenih u morskim sisavcima nije dovoljno razjašnjen, a naglašene su razlike između pojedinih elemenata, tkiva i vrsta (Honda i sur., 1987; Wagemann i sur., 1995; Aguilar i sur., 1999). Prema ocjeni O'Shea (1999) u pravilu kod morskih sisavaca nema spolnih razlika u akumulaciji elemenata u tragovima. U ovoj studiji nije bilo utjecaja spola osim kada je u pitanju sadržaj olova u plućnom tkivu ( $P < 0,05$ ). Iz tog razloga u statističkim analizama su spojeni podaci za ove dvije kategorije.

Odnos duljine tijela i koncentracije žive u jetri i bubrezima različitih vrsta morskih sisavaca opsežno je ispitan (Leonzio i sur., 1992; Caurant i sur., 1994; Monaci i sur., 1998; Monteiro-Neto i sur., 2003; Ikemoto i sur., 2004; Kunito i sur., 2004; Seixas i sur., 2007). Općenito, kod dugovječnih morskih sisavaca, koncentracije žive u jetri povećavaju se s dobi životinje (Ikemoto i sur., 2004) jer je biološko poluvrijeme raspada dugo zbog jakog afiniteta žive za -SH grupe u cisteinu.

Na slikama 22 A i B prikazan je odnos i koncentracije žive u jetri odnosno odnos koncentracija kadmija duljine tijela u bubrezima dobrih dupina (*Tursiops truncatus*).





**Slika 22:** Odnos koncentracije žive u jetri (A) i bubregu (B) dobrog dupina (*Tursiops truncatus*) u odnosu na duljinu tijela

Koncentracije žive, kadmija, arsena i selena u ovom istraživanju povećavala se s dobi. Jedino su koncentracije olova u ispitivanim tkivima pokazivale podjednake koncentracije. Kod jedinki malih duljina i tjelesnih masa rast je vrlo brz tako da povećanje koncentracije žive i kadmija nije uočljivo. Kad je rast sporiji, povećanje koncentracija žive i kadmija s povećanjem duljine je vidljivo jer je unos metala kontinuiran, a volumen se značajno povećava. Za dobre dupine dulje od 230 cm podaci su raspršeni u slučaju koncentracija žive u



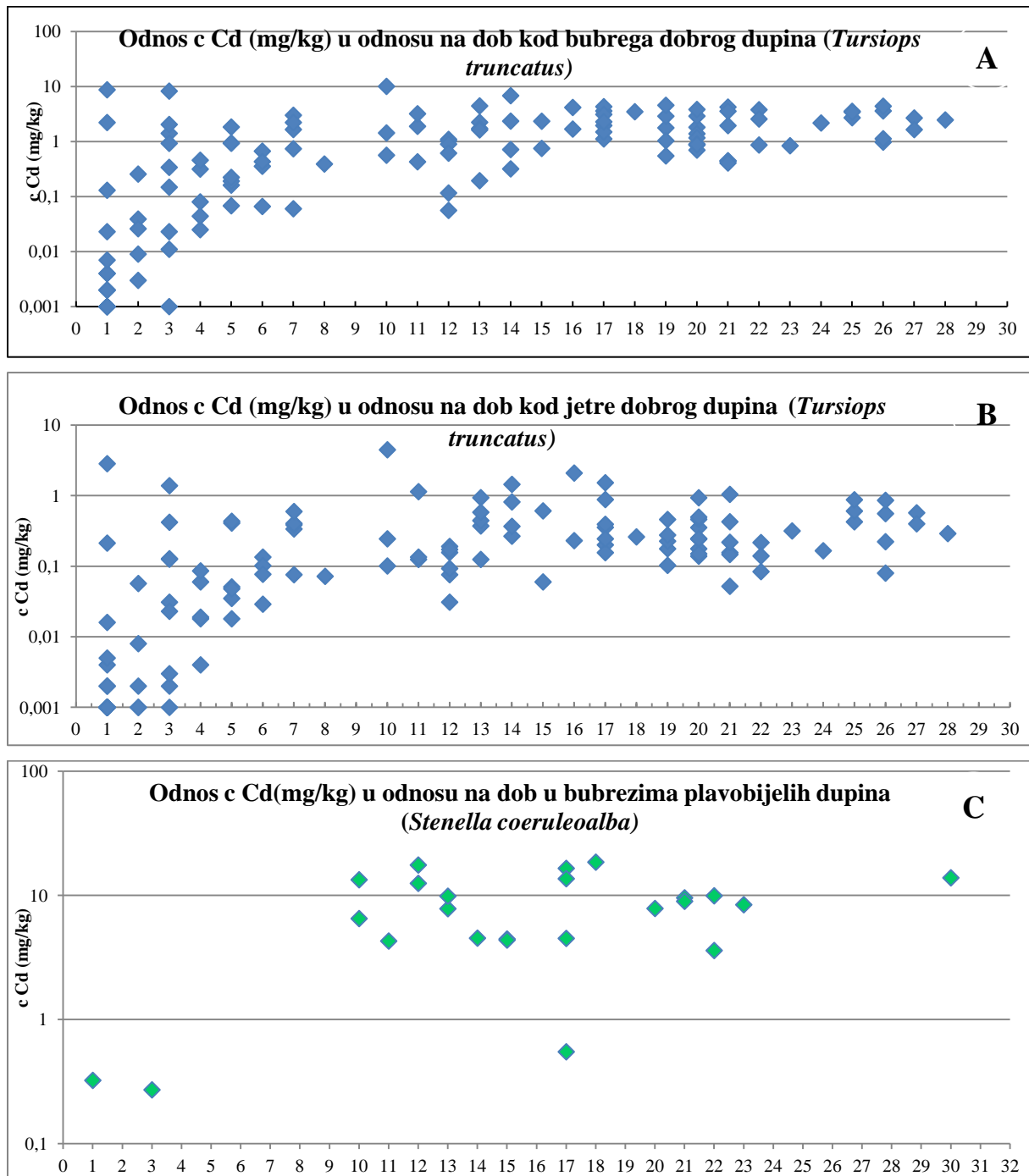
bubregu, odnosno za dobre dupine dulje od 190 cm podaci su raspršeni u slučaju koncentracija kadmija u bubregu.

Nakon prestanka rasta dupina, duljina tijela ostaje konstantna dok masa može varirati. S prestankom rasta, jedinke jednake duljine mogu imati vrlo različitu dobnu starost, i za posljedicu, nakupljanje žive i kadmija u različitom periodu trajanja što može rezultirati povećanjem koncentracije metala u tkivima.

Dokazano je da se koncentracije neesencijalnih elemenata povećaju s dobi kod nekoliko vrsta kitova diljem različitih zemljopisnih područja, posebice se to odnosi na najproučavanije metale, živu i kadmij (Honda i sur., 1983; Caurant i sur., 1994; Lahaye i sur., 2006, 2007). Oni se akumuliraju u tkivima jer količina unosa metala prelazi kapacitete izlučivanja. S obzirom na to, koncentracije će se u pojedinim tkivima povećati s dobi. Kadmij i živa izrazito se akumuliraju tijekom starenja u većini tkiva morskih sisavaca (Honda i Tatsukawa, 1983; Augier i sur., 1993b). Taj porast je pojačan u jetri u kojoj brzina izlučivanja može biti izuzetno niska zbog vezanja žive u detoksificirani oblik. Međutim, kinetika akumulacije žive i kadmija se razlikuje, ostajući slična u različitim vrstama: bioakumulacija žive odvija se tijekom cijelog života jedinke, a bioakumulacija kadmija doseže vrhunac nakon nekoliko godina, ovisno o vrsti (Caurant i sur., 1994; Aguilar i sur., 1999).

U ovom istraživanju Man Whitney testom je potvrđeno akumuliranje kadmija i žive tijekom životnog vijeka. Opažene razlike u koncentraciji žive u svim promatranim tkivima statistički se razlikuju između dobnih skupina dobrih dupina ( $P < 0,001$ ). Sadržaj kadmija u svim promatranim tkivima osim kože ( $P > 0,05$ ) viši je u starijih pripadnika vrste dobrih dupina nego u tkivima mlađih životinja, a opažene razlike statistički su značajne ( $P < 0,05$ ).

Na slikama 23 A-C prikazan je odnos koncentracija kadmija u odnosu na dob u bubregu i jetri dobrih dupina, odnosno u bubregu plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*).

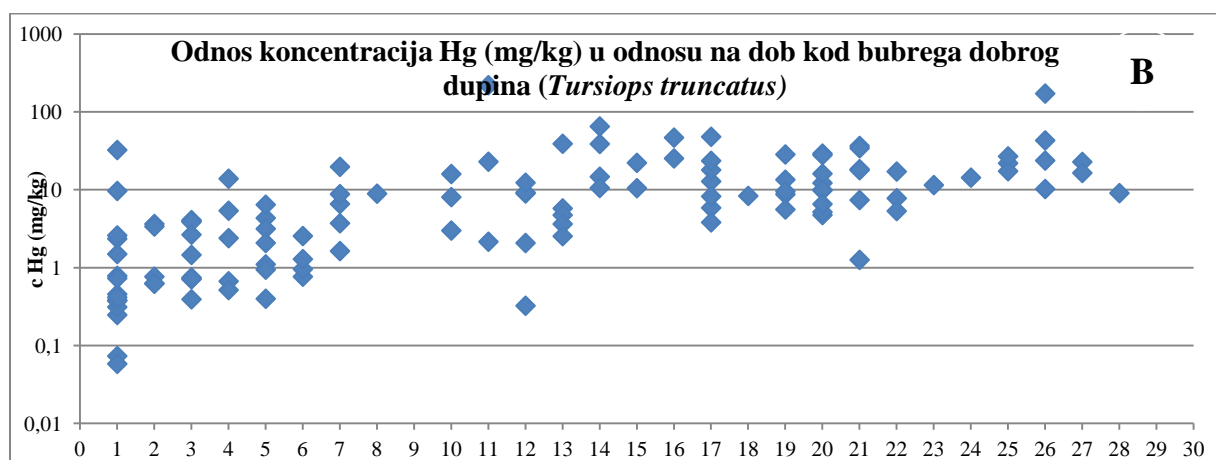
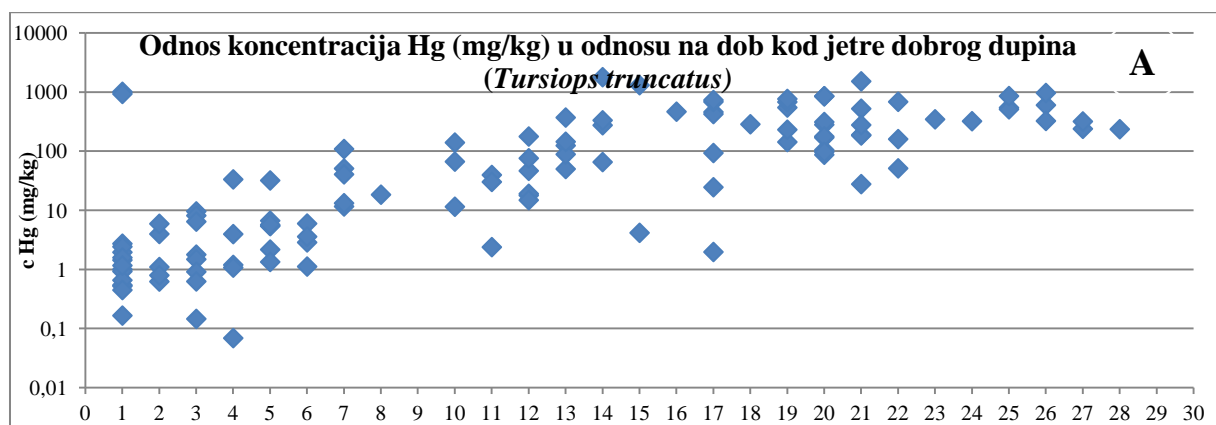


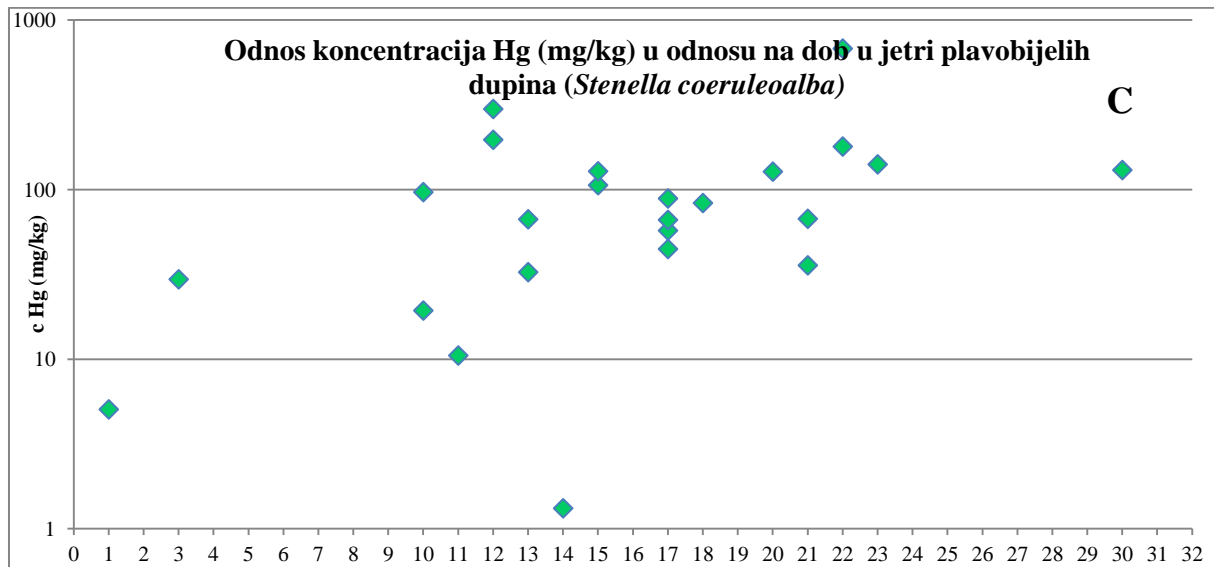
**Slika 23:** Odnos koncentracija kadmija u odnosu na dob u bubregu (A) i jetri (B) dobrih dupina (*Tursiops truncatus*), odnosno u bubregu (C) plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*)



Duljina plavobijelih dupina povećava se do dobi od 12 godina, a zatim ostaje konstantna. Nakon toga, metali se nakupljaju u konstantnom volumenu tijela (Andre i sur., 1991). U ovom radu duljina plavobijelih dupina povećava se do dobi od 10 godina, odnosno do 180 cm. Do te dobi koncentracija kadmija i žive naglo se povećava u tkivima, posebice bubrezima i jetri, a nakon desete godine prestaje nagli porast koncentracije zbog prestanka rasta. Budući da mužjaci dobrih dupina između 11-12 godine prestaju s rastom, a ženke između 10-11 godine, grafički se može primjetiti da u tim godinama prestaje nagli rast koncentracija kadmija i žive u jetri i bubrezima zbog postizanja konstantne duljine tijela.

Na slici 24 prikazan je odnos koncentracija žive obzirom na dob u jetri (A) i bubregu (B) dobrih dupina, odnosno u jetri (C) plavobijelih dupina.



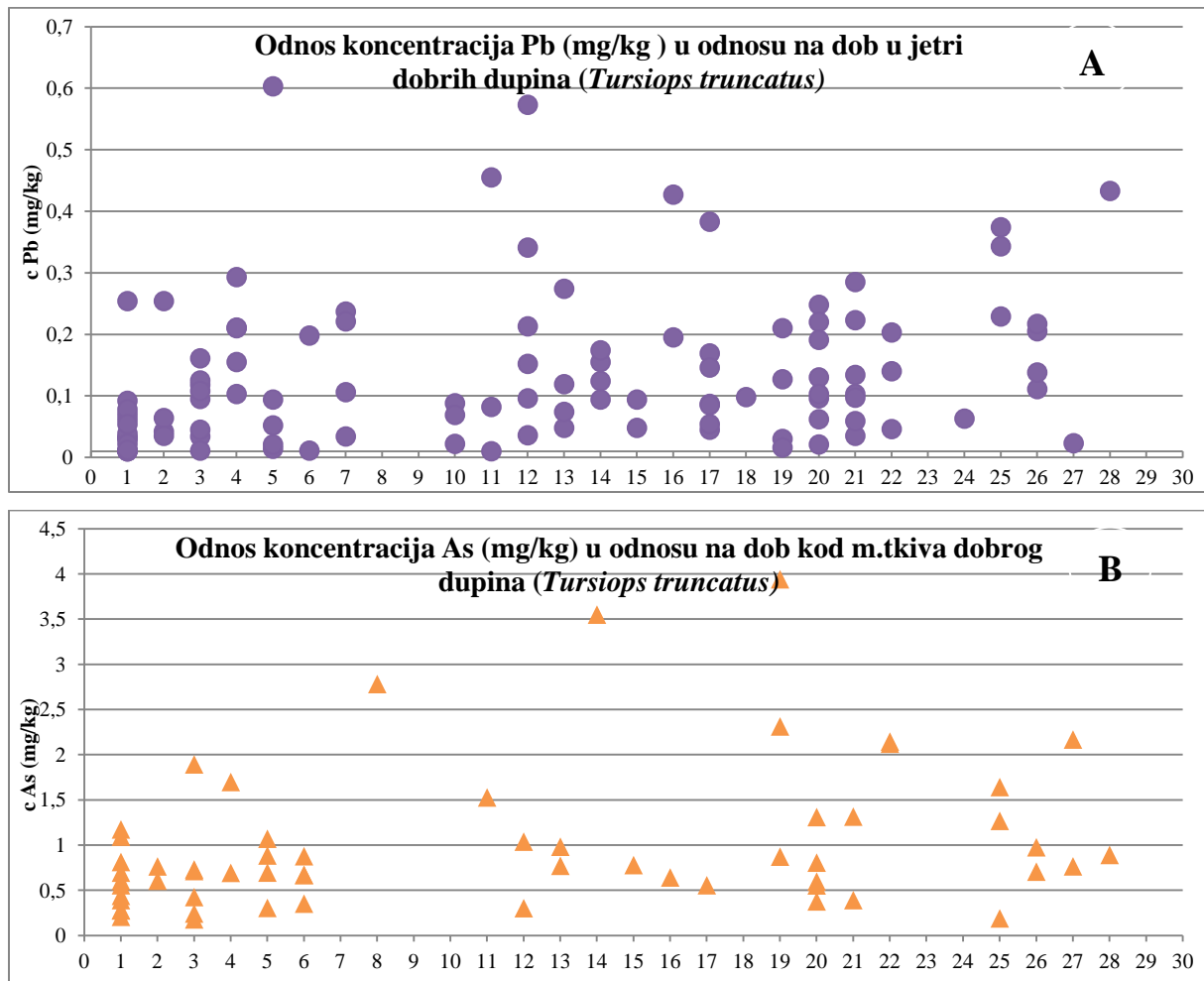


**Slika 24:** Odnos koncentracija žive obzirom na dob u jetri (A) i bubregu (B) dobrih dupina (*Tursiops truncatus*), odnosno u jetri (C) plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*)

Povišene koncentracije žive u tkivima morskih sisavaca također se povezuju s lošim zdravstvenim stanjem uzrokovanih oboljenjima poput leptospiroze (Buhler i sur., 1975), blizinom urbaniziranih područja (Anas, 1974; Roberts i sur., 1976), izgladnjivanjem (Jones i sur., 1976) i spolom, kod kojeg ženke sadrže više koncentracije od mužjaka (Gaskin i sur., 1972).

U cilju utvrđivanja postojanosti odnosa između dobi dupina i koncentracije metala u raznim tkivima kod dobrih dupina primijenjen je Man Whitney test. Nije pronađena nijedna razlika između varijabli kod olova. Iznimka je koncentracija olova u jetri ( $P < 0,001$ ). Opažene razlike u sadržaju arsena u tkivima različitih dobnih skupina dobrih dupina statistički su značajne u većini tkiva, osim u mišićju i plućima.

Slike 25 A i B prikazuju odnos koncentracija olova u jetri i arsena u masnom tkivu u odnosu na dob dobrih dupina.



**Slika 25:** Odnos koncentracija olova u u jetri (A), odnosno arsena u masnom tkivu (B) u odnosu na dob dobrih dupina (*Tursiops truncatus*)

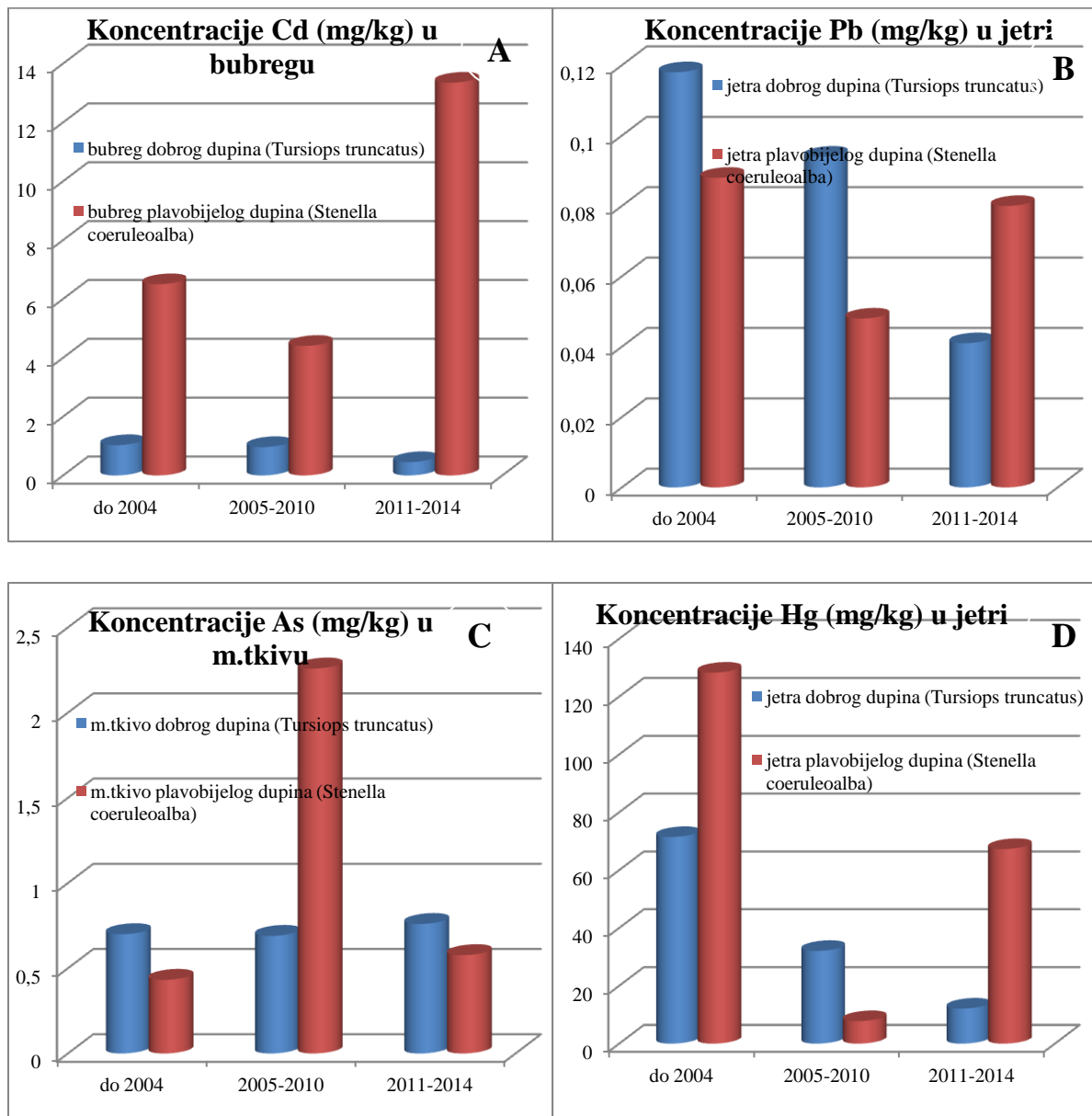
Na Slikama 26 A-E prikazane su koncentracije ispitivanih metala u periodima promatranja kod dobrih dupina i plavobijelih dupina. Prosječne koncentracije žive u jetri i bubrezima dobrih dupina nasukanim u razdoblju od 1998.-2005. su dvostruko više od onih u dobrim dupinima nasukanim u razdoblju između 2005.-2010. Koncentracije žive u dobrim dupinima iz perioda 2011.-2014. imaju najniže vrijednosti. Uspoređujući vrijednosti žive u jetri i bubrezima plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*) također se uočava smanjenje koncentracije toksičnog metala koje je trostruko smanjeno u bubregu uspoređujući period od 1998.-2014., odnosno vrijednost koncentracija žive je prepolovljena u jetri. To pokazuje



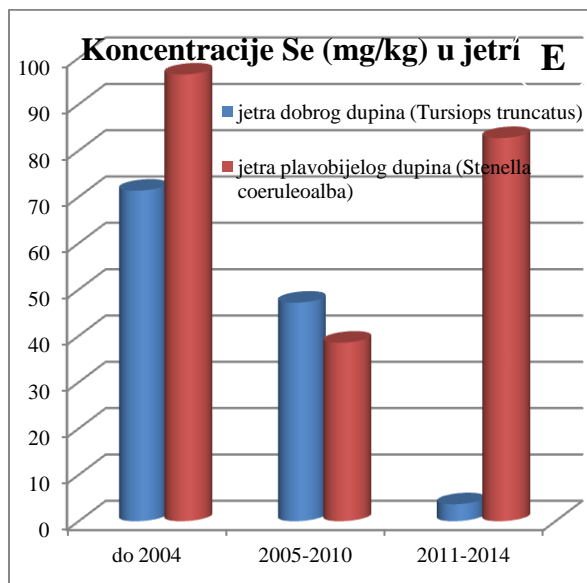
ukupni trend smanjenja koncentracije žive u ekosustavu. Kao što je već rečeno, jetra morskih sisavaca je preferencijalni organ za akumulaciju žive, pa se smatra i najboljim pokazateljem dugoročnih promjena u taloženju žive. Osim toga, visoke razine žive nalaze se i u bubrežnom tkivu, što pokazuje da je to još jedan važan organ za akumulaciju tog elementa. Trend smanjenja u ovom istraživanju je u skladu s povijesnom proizvodnjom i upotrebom žive. Značajan porast žive zbivao se tijekom industrijske revolucije zbog izgaranja fosilnih goriva i ostalih ljudskih aktivnosti. Međutim, zbog povećane svijesti o toksičnosti tog elementa uloženo je mnogo truda u posljednjih nekoliko godina kako bi se smanjila emisija žive iz industrije i energetske postrojenja (Hylander i Meili, 2003).

Uspoređujući koncentracije arsena i olova u tkivima plavobijelih dupina između vremenskog perioda promatranja nije uočeno značajno smanjenje niti porast koncentracija. Gotovo sav arsen u tkivima morskih sisavaca je u obliku netoksičnog arsenobetaina. Arsenobetain i drugi organoarsenovi spojevi izlučuju se brzo iz organizma sisavaca te ne mogu biti pokazatelji dugoročne izloženosti arsenu. Povišene koncentracije olova u jetri ukazuju na nedavnu izloženost tom metalu. Dugoročno skladištenje olova kod dupina zbiva se u kostima životinja i povišene koncentracije u kostima su obično pokazatelj dugoročnog izlaganja olovu (Butterfield i Gaylard, 2005). Vrijeme poluraspada olova varira između 5-20 godina u tvrdim tkivima, a samo nekoliko tjedana ili mjeseci u mekim tkivima (Ma, 1996). Iz tih razloga, analiza olova u tkivima kostiju i zubiju pruža informacije o dugoročnim trendovima bioakumulacije tijekom životnog vijeka kitova. Tkiva ispitivana u ovom istraživanju nisu stoga prikladna za procjenu dugoročne izloženosti olovu.

Vrlo malo prethodnih istraživanja koristilo je dupine za procjenu dinamike metala. Capelli i sur. su 2008. izvijestili o visokim koncentracijama žive u plavobijelim dupinima u Ligurskom moru, iako su koncentracije utvrđene deset godina ranije u istraživanju Monaci i suradnika (1998) bile znatno manje. Međutim, u Levantinskom bazenu (istočni Mediteran) Shoham-Frider i sur. (2009) nisu našli razlike između koncentracija žive u tkivima dobrih dupina u razdoblju od 2004. do 2006. i onih utvrđenih u periodu 1994.-2001. (Roditi-Elasar i sur., 2003) što upućuje na stabilnost tijekom vremena u razinama žive u tom dijelu Mediterana.



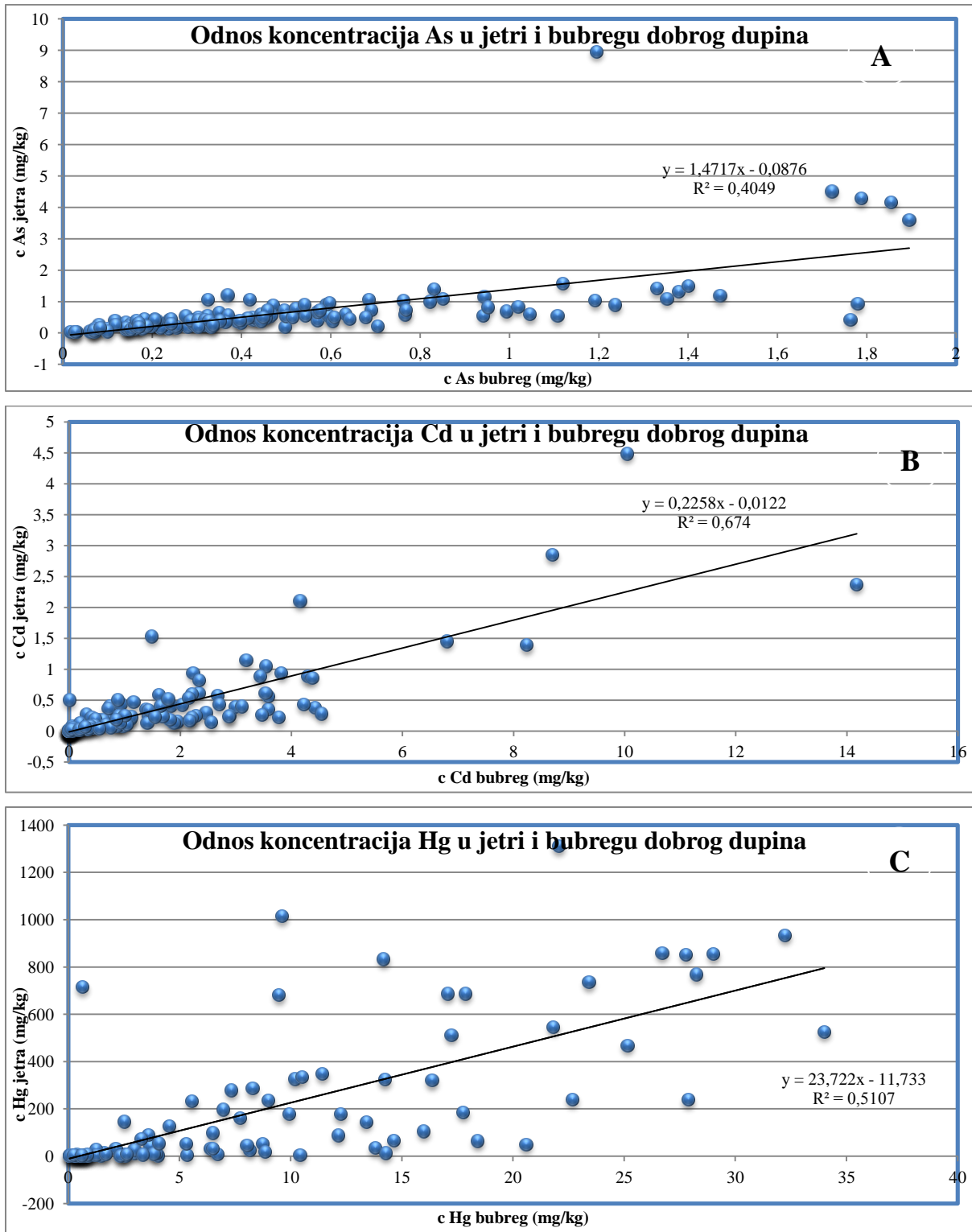




**Slika 26:** Koncentracije kadmija u bubregu (A), olova u jetri (B), arsena u masnom tkivu (C), žive u jetri (D) i selena u jetri (E) u periodima promatranja kod dobrih dupina (*Tursiops truncatus*) i plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*)

U pogledu koncentracije metala u tkivima dobrih dupina sa sjevera u odnosu na dobre dupine s juga, statistički značajne razlike opažene su u sadržaju olova u koži te sadržaju arsena i selena u plućima. Geografske razlike u koncentracijama metala vezanih uz okoliš, mogu biti posljedica prirodnih ili antropogenih izvora, što može dovesti do diferencijalnih koncentracija u plijenu. Drugi faktor je vrsta plijena koji konzumiraju dupini u ispitivanim područjima i koji mogu sadržavati različite razine kontaminanata. Testiranje hipoteze bi nužno zahtijevalo dodatne analize plijena iz svakog zemljopisnog položaja.

Na Slikama 27 A-C prikazan je odnos metala između jetre i bubrega dobrog dupina. Postoji značajna pozitivna korelacija ( $R^2$  As=0,4; Cd=0,67; Hg=0,51;  $P < 0,01$ ) u koncentraciji žive, kadmija i arsena između jetre i bubrega dobrih dupina što ukazuje na proporcionalnu akumulaciju metala u ova dva organa. Druga istraživanja su također utvrdila značajnu međutkivnu ovisnost koncentracija navedenih metala u morskim sisavcima (Meador i sur., 1999; Roditi-Elasar i sur., 2003; Ikemoto i sur., 2004; Seixas i sur., 2007).



Slika 27: Odnos koncentracija arsena (A), kadmija (B) i žive (C) između jetre i bubrega dobrog dupina (*Tursiops truncatus*)



Razlike u zastupljenosti spolova u tri promatrane vrste dupina nisu bile statistički značajne, što je omogućavalo usporedbe između pojedinih vrsta neovisno o spolu.

Uspoređujući odnose koncentracija selena kod dobrih dupina i plavobijelih dupina, više vrijednosti izmjerene su kod dobrih dupina u svim ispitivanim tkivima, osim u plućima.

Anorganska živa je glavni izvor žive u većini vodenih sustava, dok je metil-živa (MeHg) oblik koji se bioakumulira i biomagnificira u organizmima viših trofičkih razina u morskom, slatkovodnom i kopnenom prehrambenom lancu (Gray, 2002). Detoksikacija organske žive, naročito metil-žive, dobivena iz prehrane pretvara se u manje toksične, neorganske oblike, kao što su inertni živin selenid (HgSe) u jetri morskih sisavaca (Ikemoto i sur., 2004; Kunito i sur., 2004). Molarni omjer selena i žive 1:1 u jetri različitih vrsta morskih sisavaca objavljen je u mnogim istraživanjima (Leonzio i sur., 1992; Palmisano i sur., 1995; Meador i sur., 1999; Capelli i sur., 2000; Wagemann i sur., 2000; Endo i sur., 2002). Hg:Se molarni odnos u jetri dobrih dupina kod mladih i odraslih jedinki iznosi 0,75 odnosno 0,87 što je približno jednaka vrijednost. Hg:Se molarni odnosi u jetri glavatih dupina iznosi 0,67 dok je kod plavobijelih dupina omjer 0,39.

## **5. ZAKLJUČCI**



1. Razine kadmija utvrđene ovim istraživanjem slijede trendove zabilježene od strane drugih autora o koncentracijama koje se smanjuju redoslijedom: bubreg > jetra > drugi organi. Najveći dio kadmija, 50 % njegove ukupne količine u organizmu, nalazi se u jetri i bubrezima. Razine kadmija u bubregu dobrih dupina (*Tursiops truncatus*) su niže od onih u plavobijelim dupinima (*Stenella coeruleoalba*) i glavatim dupinima (*Grampus griseus*) što se može objasniti različitom količinom glavonožaca u njihovoj prehrani. Niti jedan od dupina analiziranih u ovom istraživanju nije bio izložen koncentracijama kadmija u jetri > 20 mg/kg mokre mase koje mogu kod morskih sisavaca uzrokovati zatajenje bubrežnih funkcija.
2. Koncentracije kadmija su približno jednake kod dobrih dupina i plavobijelih dupina utvrđenih u ovom istraživanju s dostupnim podacima o istraživanjima na Mediteranu. Kod glavatih dupina koncentracija kadmija u bubregu u ovom istraživanju je znatno viša od rezultata dobivenih na jugu Italije, ali usporediva s onima u Ligurskom moru.
3. Više od 50 % izmjerenih vrijednosti olova za sve tri vrste dupina i ispitivanih tkiva niže su od 0,1 mg/kg. Izmjerene koncentracije olova bile su najviše u jetri, zatim bubrezima i plućim, a najniže u mišićima što se podudara s dostupnim literaturnim podacima. Tkiva ispitivana u ovom istraživanju nisu prikladna za procjenu dugoročne izloženosti olovu obzirom na velike razlike vremena poluraspada u tvrdim tkivima u odnosu na meka tkiva.
4. Najviše koncentracije arsena izmjerene su kod glavatih dupina, zatim plavobijelih dupina pa dobrih dupina što odgovara načinima prehrane, odnosno konzumacijom hrane u kojoj su koncentracije arsena u rakovima, glavonošcima i algama više nego u ribama.



5. Koncentracije arsena utvrđene ovim istraživanjem su usporedive s literaturnim vrijednostima prethodnih istraživanja u Svijetu. Budući da se arsen vrlo rijetko analizira u dupinima podaci o koncentracijama na Mediteranu nisu bili dostupni.
6. U velikom broju jedinki utvrđene su koncentracije žive u jetri koje prelaze donju kritičnu razinu (100 mg/kg) u sve tri vrste dupina. Kod glavatih dupina kod 83,37 % jedinki utvrđene su više vrijednosti. Kod plavobijelih dupina 37,5 % uzoraka jetre prelazi kritičnu vrijednost, dok kod dobrih dupina 32,7 %. Gornju kritičnu razinu koncentracije žive u jetri (400 mg/kg) prelazi 15,3 % jedinki dobrih dupina, 66,6 % glavatih dupina i jedan plavobijeli dupin.
7. Koncentracije žive u jetri plavobijelih dupina u ovom istraživanju su malo niže od dostupnih podataka prikupljenih na Mediteranu. U jetri dobrih dupina koncentracije žive utvrđene u kitovima pronađenih uz izraelsku obalu su niže u odnosu na hrvatski dio Jadranskog mora. Koncentracije žive u ispitivanim tkivima glavatih dupina također su niže u kitovima pronađenim u izraelskim morskim vodama.
8. Hg:Se molarni odnos u jetri odraslih dobrih dupina pokazuje očekivane vrijednosti (0,87), dok jetra mladih dobrih dupina pokazuje visoki molarni odnos (0,78), netipičan za dobnu skupinu. Molarni odnos žive i selena u jetri glavatih dupina iznosi 0,67. Hg:Se molarni odnos u jetri plavobijelih dupina iznosi 0,39 što je niže od vrijednosti izvještavanim u literaturi.
9. Rezultati rada potvrđuju akumuliranje kadmija, arsena, selena i žive tijekom životnog vijeka. Postojanost odnosa između dobrih dupina i koncentracije olova u raznim tkivima kod dobrih dupina nije pronađena. Iznimka je koncentracija olova u jetri.
10. Statistički značajna razlika u koncentraciji ispitivanih metala između spolova kod dobrih dupina utvrđena je samo u sadržaju olova u plućima.



11. Ne postoji statistički značajna razlika između koncentracije metala u tkivima dobrih dupina sa sjevernog dijela hrvatskog Jadranskog mora u odnosu na dobre dupine s juga, osim kod sadržaja olova u koži te sadržaja arsena i seleno u plućima.
12. Dobiveni rezultati su pokazatelj smanjenja koncentracija žive u hrvatskom dijelu Jadranskog mora tijekom razdoblja 1995.-2014. Međutim, unatoč smanjenom korištenju žive, onečišćenje ovim elementom i dalje je prisutno, odnosno, visoke razine se još uvijek nalaze u dupinima.
13. U ovom istraživanju najopsežnije je prikazano stanje toksičnih metala istočne obale Jadrana i kitova (dupina) koji obitavaju u ovim vodama. Budući da dupini dijele obalno okruženje s ljudima i konzumiraju istu morsku hranu (ribe i glavonošce), oni mogu poslužiti kao učinkoviti bioindikatori u ekološkim studijama u svrhu utvrđivanja rizika od onečišćenja okoliša. Ovaj pristup osigurava novi put za bolje razumijevanje povezanosti ekosustava i zdravlja ljudi.
14. Formirana je ekotoksikološka baza podataka koja može pomoći procjeni zdravstvenog stanja zaštićene vrste u Jadranskom moru i dati jasniji uvid u upravljanje morskim ekosustavom.

## **6. LITERATURA**





Agay, D., Sandre, C., Ducros, V., Faure, H., Cruz, C., Alonso, A., Roussel, A. M., Chancerelle, Y. (2005) Optimization of selenium status by a single intraperitoneal injection of Se in Se-deficient rat: possible application to burned patient treatment. *Free Radic. Biol. Med.* **39**, 762-768.

Aguilar, A., Borrell, A., Pastor, T. (1999) Biological factors affecting variability of persistent pollutant levels in cetaceans. *J. Cetac. Res. Manage.* **1**, 83-116.

Agusa, T., Nomura, K., Kunito, T., Anan, Y., Iwata, H., Miyazaki, N., Tatsukawa, R., Tanabe, S. (2008) Interelement relationships and age-related variation of trace element concentrations in liver of striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) from Japanese coastal waters. *Mar. Pollut. Bull.* **57**, 807-15.

Anas, R. E. (1974) Heavy metals in northern fur seals. *Callorhinus ursinus*, and harbor seals, *Phoca vitulina richardi*. *U.S. Dept. Commerce Fish. Bull.* **72**, 133-137.

André, J. M., Amiard, J. C., Amiard-Triquet, C., Boudou, M., Ribeyre, F. (1990) Cadmium contamination of tissues and organs of delphinid species (*Stenella attenuata*) — Influence of biological and ecological factors. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **20**, 290-306.

André, J. M., Ribeyre, F., Boudou, A. (1990) Mercury contamination levels and distribution in tissues and organs of Delphinids (*Stenella attenuata*) from the eastern tropical pacific, in relation to biological and ecological factors. *Mar. Environ. Res.* **30**, 43-72.

Andre, J., Boudou, A., Ribeyre, F., Bernhard, M. (1991) Comparative study of mercury accumulation in dolphins (*Stenella coeruleoalba*) from the French Atlantic and Mediterranean coasts. *Sci. Total Environ.* **104**, 191-209.



Arai, T., Ikemoto, T., Hokura, A., Terada, Y., Kunito, T., Tanabe, S., Nakai, I. (2004) Chemical forms of mercury and cadmium accumulated in marine mammals and seabirds as determined by XAFS analysis. *Envir. Sc. Tech.* **38**, 6468-6474.

Archer, F. I., Perrin W. F. (1999) *Stenella coeruleoalba*. *Mammalian Species*. **603**, 1-9.

Archer, F. I. (2002) Striped dolphin *Stenella coeruleoalba*. U: *Encyclopedia of Marine Mammals* (Perrin, W. F., Wersig, B., Thewissen, J. G. M., ured), Academic Press, San Diego, str. 1201-1203.

ATSDR (1999) *Toxicological Profile for Mercury*. US Department of Health and Human Services, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta.

ATSDR (2012) *Toxicological Profile for Cadmium*. US Department of Health and Human Services, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta.

Augier, H., Prak, W. K., Ronneau, C. (1993a) Mercury contamination of the striped dolphin *Stenella coeruleoalba* Meyen from the French Mediterranean coasts. *Mar. Pollut. Bull.* **26**, 306-311.

Augier, H., Benkoël, L., Chamlian, A., Park, W. K., Ronneau, C. (1993b) Mercury, zinc and selenium bioaccumulation in tissues and organs of Mediterranean striped dolphins *Stenella coeruleoalba* Meyen. Toxicological result of their interaction. *Cell. Mol. Biol.* **39**, 621-634.

Augier, H., Ramonda, G., Albert, C., Godart, C., Deluy, K. (2001) Evolution of the metallic contamination of the striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) on the French Mediterranean coasts between 1990 and 1997. *Toxicol. Environ. Chem.* **80**, 189–201.



---

Bacci, E. (1989) Mercury in the Mediterranean. *Mar. Pollut. Bull.* **20**, 59-63.

Baird, R. W., Walters, E. L., Stacey, P. J. (1993) Status of the Bottle-Nosed-Dolphin, *Tursiops-Truncatus*, with Special Reference to Canada. *Canadian Field-Naturalist* **107**, 466-480.

Bakir, F., Damluji, S. F., Amin-Zaki, L., Murtadha, M., Khalidi, A., al-Rawi, N. Y., Tikriti, S., Dahahir, H. I., Clarkson, T. W., Smith, J. C., Doherty, R. A. (1973) Methylmercury poisoning in Iraq. *Science*. **181**, 230–241.

Bearzi, G., Holcer, D., Notarbartolo Di Sciara, G. (2004) The role of historical takes and habitat degradation in shaping the present status of northern Adriatic cetaceans. *Aquatic Conserv. Mar. Freshw. Ecosyst.* **14**, 363-379.

Bearzi, G., Fortuna, C. M., Reeves, R. R. (2009) Ecology and conservation of common bottlenose dolphins *Tursiops truncatus* in the Mediterranean Sea. *Mammal Rev.* **39**, 92-123.

Beck, K.M., Fair, P., Mcfee, W., Wolf, D. (1997) Heavy metals in livers of bottlenose dolphins stranded along the South Carolina coast. *Mar. Environ. Res.* **34**, 734–739.

Becker, P. R., Mackey, E. A., Demiralp, R., Suydam, R., Early, G., Koster, B. J., Wise, S. A. (1995) Relationship of silver with selenium and mercury in the liver of two species of toothed whales (odontocetes). *Mar. Poll. Bull.* **30**, 262–271.

Beijer, K., Jernelov, A. (1978) Ecological aspects of mercury-selenium interactions in the marine environment. *Environ. Health Perspect.* **25**, 43-45.



Bennett, P. M., Jepson, P. D., Law, R. J., Jones, B. R., Kuiken, T., Baker, J. R., Rogan, E., Kirkwood, J. K. (2001) Exposure to heavy metals and infectious disease mortality in harbour porpoises from England and Wales. *Environ. Pollut.* **112**, 33–40.

Bernier, J., Brousseau, P., Krzystyniak, K., Tryphonas, H., Fournier, M. (1995) Immunotoxicity of heavy metals in relation to Great Lakes. *Environ. Health Perspect.* **9**, 23–34.

Benramdane, L., Accominotti, M., Fanton, L., Malicier, D., Vallon, J. J. (1999) Arsenic speciation in human organs following fatal arsenic trioxide poisoning - a case report. *Clin Chem.* **45**, 301-306.

Bernhoft, R. A. (2012) Mercury toxicity and treatment: a review of the literature. *J. Environ. Public Health.* 2012, 460-508.

Borak, J., Hosgood, H. D., (2007) Seafood arsenic: Implications for human risk assessment. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* **47**, 204-212.

Borrell, A., Aguilar, A., Tornero, V., Drago, M. (2014) Concentrations of mercury in tissues of striped dolphins suggest decline of pollution in Mediterranean open waters. *Chemosphere* **107**, 319-323.

Bossart, G. D. (2011) Marine Mammals as Sentinel Species for Oceans and Human Health. *Vet. Pathol.* **48**, 676-690.

Branco, V., Canario, J., Lu, J., Holmgren, A., Carvalho, C. (2012) Mercury and selenium interaction *in vivo*: effects on thioredoxin reductase and glutathione peroxidase. *Free Radic. Biol. Med.* **52**, 781-793.



Braham, H. W. (1973) Lead in the California sea lion (*Zalophus californianus*). *Environ. Pollut.* **5**, 253–258.

Bressler, J. P., Olivi, L., Cheong, J. H., Kim, Y., Bannona, D. (2004) Divalent metal transporter 1 in lead and cadmium transport. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1012**, 142-152.

Brunborg, L. A., Graff, I. E., Frøyland, L., Julshamn, K. (2006) Levels of non-essential elements in muscle from harp seal (*Phagophilus groenlandicus*) and hooded seal (*Cystophora cristata*) caught in the Greenland Sea area. *Sci. Total Environ.* **366**, 784–98.

Bryan, C. E., Christopher, S. J., Balmer, B. C., Wells, R. S. (2007) Establishing baseline levels of trace elements in blood and skin of bottlenose dolphins in Sarasota Bay, Florida: Implications for non-invasive monitoring. *Sci. Total Environ.* **388**, 325-342.

Buhler, D. R., Claeys, R. R., Mate, B. R. (1975) Heavy metal and chlorinated hydrocarbon residues in California sea lions (*Zalophus californianus*). *J. Fish. Res. Bd. Can.* **32**, 2391–2397.

Burger, J. (2008) Assessment and management of risk to wildlife from cadmium. *Sci. Total Environ.* **389**, 37-45.

Bustamante, P., Caurant, F., Fowler, S. W., Miramand, P. (1998) Cephalopods as a vector for the transfer of cadmium to top marine predators in the north-east Atlantic Ocean. *Sci. Total Environ.* **220**, 71-80.

Bustamante, P., Cosson, R.P., Gallien, I., Caurant, F., Miramand, P. (2002) Cadmium detoxification processes in the digestive gland of cephalopods in relation to accumulated cadmium concentrations. *Mar. Environ. Res.* **53**, 227-241.



Butterfield, N., Gaylard, S. (2005) *The Heavy Metal Status of South Australian Dolphins: An Overview*. Environment Protection Authority, Adelaide.

Cámara Pellissó, S., Muñoz, M. J., Carballo, M., Sánchez-Vizcaíno, J. M. (2008) Determination of the immunotoxic potential of heavy metals on the functional activity of bottlenose dolphin leukocytes *in vitro*. *Vet. Immunol. Immunopathol.* **121**, 189-198.

Canella, E. J., Kitchener, D. J. (1992) Differences in mercury levels in female sperm whale, *Physeter macrocephalus* (Cetacea: Odontoceti). *Aust. Mammal Soc.* **15**, 121-123.

Cappon, C. J., Smith, J. C. (1982) Chemical form and distribution of mercury and selenium in edible seafood. *J. Anal. Toxicol.* **6**, 10-2.

Capelli, R., De Pellegrini, R., Minganti, V. (1989) Preliminary results on the presence of inorganic, organic mercury and selenium in dolphins (*Stenella coeruleoalba*) from the Ligurian sea. U: *Proceedings of the 3rd Annual Conference*, European Cetacean Society, La Rochelle, France 24-26 February (Evans, P.G.H., Smeenk, C., ured), str. 19-24.

Capelli, R., Drava, G., De Pellegrini, R., Minganti, V., Poggi, R. (2000) Study of trace elements in organs and tissues of striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) found dead along the Ligurian coasts (Italy). *Adv. Environ. Res.* **4**, 31-4.

Capelli, R., Kas, D., De Pellegrini, R., Drava, G., Lepoint, G., Miglio, C., Minganti, V., Poggi, R. (2008) Distribution of trace elements in organs of six species of cetaceans from the Ligurian Sea (Mediterranean), and the relationship with stable carbon and nitrogen ratios. *Sci. Total Environ.* **390**, 569-578.



Cardellicchio, N., Giandomenico, S., Ragone, P., Di Leo, A. (2000) Tissue distribution of metals in striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) from the Apulian coasts, Southern Italy. *Mar. Environ. Res.* **49**, 55-66.

Cardellicchio, N., Decataldo, A., Di Leo, A., Misino, A. (2002) Accumulation and tissue distribution of mercury and selenium in striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) from the Mediterranean Sea (Southern Italy). *Environ. Pollut.* **116**, 265–271.

Carvalho, M. L., Pereira, R. A., Brito, J. (2002) Heavy metals in soft tissues of *Tursiops truncatus* and *Delphinus delphis* from west Atlantic Ocean by X-ray spectrometry. *Sci. Total Environ.* **292**, 247–254.

Caurant, F., Amiard, J. C., Amiard-Triquet, C., Sauriau, P. G. (1994) Ecological and biological factors controlling the concentrations of trace elements (As, Cd, Cu, Hg, Se, Zn) in delphinids *Globicephala melas* from the north Atlantic Ocean. *Mar. Ecol. Prog.* **103**, 207-219.

Caurant, F., Navarro, M., Amiard, J. C. (1996) Mercury in pilot whales: possible limits to the detoxification process. *Sci. Total Environ.* **186**, 95-104.

Caurant, F., Aubajj, A., Lahaye, V., Van Canneyt, O., Rogan, E., Lopez, A., Addink, M., Churlaud, C., Robert, M., Bustamante, P. (2006) Lead contamination of small cetaceans in European waters - The use of stable isotopes for identifying the sources of lead exposure. *Mar. Environ. Res.* **62**, 131-148.

Cernichiari, E., Brewer, R., Myers, G.J. (1995) Monitoring methylmercury during pregnancy: maternal hair predicts fetal brain exposure. *Neurotoxicol.* **16**, 705-710.



Choudhuri, S., Liu, W.L., Berman, N.E., Klaassen, C.D. (1996) Cadmium accumulation and metallothionein expression in brain of mice at different stages of development. *Toxicol Lett.* **84**, 127–133.

Choy, C. A., Popp, B. N., Kaneko, J. J., Drazen, J. C. (2009) The influence of depth on mercury levels in pelagic fishes and their prey. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **106**, 13865–13869.

Clarkson, T. W., Magos, L. (2006) The toxicology of mercury and its chemical compounds. *Crit. Rev. Toxicol.* **36**, 609-662.

Clarkson, T. W. (2002) The three modern faces of mercury. *Environ. Health Perspect.* **110**, 11-23.

Committee on Taxonomy. (2011) List of marine mammal species and subspecies. Society for Marine Mammalogy. [www.marinemammalscience.org](http://www.marinemammalscience.org).

Connell, D. W. (1989) Biomagnification by aquatic organisms - a proposal. *Chemosphere* **19**, 1573–1584.

Cossa, D., Martin, J. M., Sanjuan, J. (1994) Dimethylmercury formation in the Alboran Sea. *Mar. Pollut. Bull.* **28**, 381-384.

Cossa, D., Averty, B., Pirrone, N. (2009) The origin of methylmercury in open Mediterranean waters. *Limnol. Oceanogr.* **54**, 837–844.

Cowan, D. F. (2002) Histologic features of the dolphin liver: Normal anatomy and criteria for diagnosis. U: *Proceedings of the 33rd Conference of the International Association of Aquatic*





*Animal Medicine*, Albufeira, Portugal (Smith, S. A., ured.), International Association of Aquatic Animal Medicine Proceedings **33**, 136–137.

Cox, P. A. (1995) *The Elements on Earth: Inorganic Chemistry in the Environment*. Oxford University Press, Oxford, str. 287.

Cuvin-Aralar, M. L. A., Furness, R. W. (1991) Mercury and selenium interaction: a review. *Ecotoxicol. Environ. Safe.* **21**, 348–364.

Das, K., Debacker, V., Bouquegneau, J.M. (2000) Metallothioneins in marine mammals. *Cell. Mol. Biol.* **46**, 283-294.

Das, K., Debacker, V., Pillet, S., Bouquegneau, J. M. (2003) Heavy metals in marine mammals. U: *Toxicology of Marine Mammals* (Vos, J.V., Bossart, G.D., Fournier, M., O'Shea, T, ured.), Taylor and Francis Publishers, Washington D.C, str. 135-167.

Das, K., Siebert, U., Fontaine, M., Jauniaux, T., Holsbeek, L. and Bouquegneau, J. M. (2004) Ecological and pathological factors related to trace metal concentrations in harbour porpoises *Phocoena phocoena* from the North Sea and adjacent areas. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **281**, 283-295.

Dehn, L. A., Follmann, E. H., Rosa, C., Duffy, L. K., Thomas, D. L., Bratton, G. R. (2006) Stable isotope and trace element status of subsistence-hunted bowhead and beluga whales in Alaska and gray whales in Chukotka. *Mar. Pollut. Bull.* **52**, 301–319.

De Michele, S. J. (1984) Nutrition of lead. *Comp. Biochem. Physiol.* **78A**, 401–408.



De Guise, S., Martineau, D., Beland, P., Fournier, M. (1995) Possible mechanisms of action of environmental contaminants on St. Lawrence beluga whales (*Delphinapterus leucas*). *Environ. Health Perspect.* **103**, 73-77.

Dixon, H. B. F. (1997) The biochemical action of arsonic acids especially as phosphate analogues. *Adv. Inorg. Chem.* **44**, 191–227.

Dietz, R., Nielsen, C. O., Hansen, M. M., Hansen, C. T. (1990) Organic mercury in Greenland birds and mammals. *Sci. Total Environ.* **95**, 41-51.

Dietz R., Nørgaard J., Hansen J. C. (1998) Have arctic mammals adapted to high cadmium levels? *Mar. Pollut. Bull.* **36**, 490-492.

Dorneles, P. R., Lailson-Brito, J., dos Santos, R. A., da Costa, P. A. S., Malm, O., Azevedo, A. F. (2007) Cephalopods and cetaceans as indicators of offshore bioavailability of cadmium off Central South Brazil Bight. *Environ. Pollut.* **148**, 352–359.

Driscoll, C. T., Mason, R. P., Chan, H. M., Jacob, D. J., Pirrone, N. (2013) Mercury as a global pollutant: sources, pathways, and effects. *Environ. Sci. Technol.* **47**, 4967-4983.

Duraković, Z., Labar, B. (2000) Hematološke promjene kao posljedice otrovanja. U: *Klinička toksikologija*, Grafos, Zagreb, str. 83-87.

Durden, W. N., Stolen, M. K., Adams, D. H., Stolen, E. D. (2007) Mercury and selenium concentrations in stranded bottlenose dolphins from the Indian River Lagoon System, Florida. *Bull. Mar. Sci.* **81**, 37–54.



Đuras Gomerčić, M. (2006) Rast, spolni dimorfizam i morfometrijske značajke dobrog dupina (*Tursiops truncatus Montagu*, 1821) iz Jadranskog mora. Disertacija. Veterinarski fakultet, Sveučilište u Zagrebu.

Ebinghaus, R., Banic, C., Beauchamp, S., Jaffe, D., Kock, H., Pirrone, N., Poissant, L., Sprovieri, F., Weiss-Penzias, P. (2009) Spatial coverage and temporal trends of land-based atmospheric mercury measurements in the Northern and Southern Hemispheres. U: *Mercury Fate and Transport in the Global Atmosphere* (Pirrone, N., Mason, R., ured.), Springer, New York, str. 223–291.

Ebisuda, K., Kunito, T., Kubota, R., Tanabe, S. (2002) Arsenic concentrations and speciation in the tissues of the ringed seals (*Phoca hispida*) from Pangnirtung, Canada. *Appl. Organomet. Chem.* **16**, 451–457.

Eisler, R. (2009) *Compendium of Trace Metals and Marine Biota Volume 2: Vertebrates*. Elsevier, Amsterdam.

Elinder, C., Järup, L. (1996) Cadmium exposure and health risks: recent findings. *Ambio* **25**, 370-373.

Endo, T., Haraguchi, K., Sakata, M. (2002) Mercury and selenium concentrations in the internal organs of toothed whales and dolphins marketed for human consumption in Japan. *Sci. Total Environ.* **300**, 15–22.

Endo, T., Haraguchi, K., Cipriano, F., Simmonds, M.P., Hotta, Y., Sakata, M. (2004) Contamination by mercury and cadmium in the cetacean products from Japanese market, *Chemosphere* **54**, 1653-1662.



Ercal, N., Gure-Orhan, H., Aykin-Burns, N. (2001) Toxic metals and oxidative stress Part I: Mechanisms involved in metal induced oxidative damage. *Curr. Top. Med. Chem.* **1**, 529-539.

Fair, P. A., Becker, P. R. (2000) Review of stress in marine mammals. *J. Aquat. Ecosyst. Stress Recovery* **7**, 335-54.

FAO/WHO (1989) Toxicological evaluation of certain food additives and contaminants. WHO food additive series No. 44.

Feroci, G., Badiello, R., Fini, A. (2005) Interactions between different selenium compounds and zinc, cadmium and mercury. *J. Trace Elem. Med. Biol.* **18**, 227-34.

Francesconi, K. A., Edmonds, J. S. (1998) Arsenic species in marine samples. *Croat. Chem. Acta.* **71**, 343-359.

Francis, D. R., Bennett, K. A. (1994) Addition data on mercury accumulation in Northern Michigan River Otters. *J. Fresh. Ecol.* **9**, 1-5.

Friberg, L., Elinder, C. G., Kjellström, T., Nordberg, G. F. (1986) Cadmium and Health. A toxicological and epidemiological appraisal Volume II: Effects and response. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, USA, str. 303.

Friberg, L., Mottet, N. K. (1989) Accumulation of methylmercury and inorganic mercury in the brain. *Biol. Trace Elem. Res.* **21**, 201-206.

Frodello, J. P., Romeo, M., Viale, D. (2000). Distribution of mercury in the organs and tissues of five toothed-whale species of the Mediterranean. *Environ. Pollut.* **108**, 447-452.



Fujise, Y., Honda, K., Tatsukawa, R., Mishima, S. (1988) Tissue distribution of heavy metals in Dall's porpoise in the northwestern Pacific. *Mar. Pollut. Bull.* **19**, 226-230.

Gaskin, D. E., Ishida, K., Frank, R. (1972) Mercury in harbour porpoises (*Phocoena phocoena*) from the Bay of Fundy Region. *J. Fish. Res. Bd. Can.* **29**, 1644–1646.

Gailer, J. (2007) Arsenic–selenium and mercury–selenium bonds in biology. *Coordin. Chem. Rev.* **251**, 234-254.

Galov, A. (2007) Genetička raznolikost populacije dobrog dupina (*Tursiops truncatus*) s osvrtom na druge vrste kitova (Cetacea) Jadranskog mora. Disertacija. Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu.

Gallien, I., Caurant, F., Bordes, M., Bustamante, P., Fernandez, B., Quellard, N., Babin, P. (2001) Cadmium-containing granules in kidney tissue of the Atlantic white-sided dolphin (*Lagenorhynchus acutus*) off the Faroe Islands. *Comp. Biochem. Phys. C* **130**, 389-395.

Gerpe, M. S., Rodriguez, D. H., Moreno, V. J., Bastida, R. O., Moreno, J. A. E. (2002) Accumulation of heavy metals in the franciscana (*Pontoporia blainvillei*) from Buenos Aires Province, Argentina. *LAJAM* **1**, 95–106.

Gibbs, P. E., Langston, W. J., Burt, G. R., Pascoe, P. L. (1983) *Tharyx marioni* (Polychaeta): a remarkable accumulator of arsenic. *J. Mar. Biol. Assoc. U K* **63**, 313–325.

Gochfeld, M. (1997) Factors influencing susceptibility to metals. *Environ. Health Perspect.* **105**, 817–822.



Godt, J., Scheidig, F., Grosse-Siestrup, C., Esche, V., Brandenburg, Reich, P., A., Groneberg, D. A. (2006) The toxicity of cadmium and resulting hazards for human health. *J. Occup. Med. Toxicol.* **1**, 22.

Goessler, W., Rudorfer, A., Mackey, E. A., Becker, P. R., Irgolic, K. J. (1998) Determination of arsenic compounds in marine mammals with high-performance liquid chromatography and an inductively coupled plasma mass spectrometer as element-specific detector. *Appl. Organomet. Chem.* **12**, 491–501.

Gomerčić, H., Huber, Đ., Gomerčić, T., Gomerčić, A., Škrtić, D., Vuković, S. (1994) Plavobijeli dupin (*Stenella caeruleoalba*, Meyen 1833) godine 1991. po prvi puta nađen u Jadranu. *Zbornik sažetaka priopćenja. Peti kongres biologa Hrvatske*, Pula 3.-7. 10. 1994., Zagreb, str. 340-341.

Gomerčić, H., Huber, D., Gomerčić, A., Gomerčić, T. (1998) Geographical and historical distribution of the cetaceans in Croatian part of the Adriatic Sea. *Rapport du 35e Congres de la Commission Internationale pour l'Exploration Scientifique de la Mer Méditerranée. CIESM Congress Proceedings*, Dubrovnik, Croatia, **35**, str. 440-444.

Gomerčić, H., Đuras, M., Lucić, H., Gomerčić, T., Huber, Đ., Škrtić, D., Cukrović S, Galov, A., Vučković, S. (2002) Cetacean mortality in Croatian part of the Adriatic Sea in period from 1990 till February 2002. *9th International Congress on the Zoogeography and Ecology of Greece and Adjacent Regions, Abstracts*. The Hellenic Zoological Society. Thessaloniki, str. 42.

Gomerčić, T., Đuras Gomerčić, M., Gomerčić, H., Škrtić, D., Ćurković, S., Lucić, H., Galov, A., Vuković, S., Huber, Đ. (2004) Vrste, brojnost i rasprostranjenost morskih sisavaca u hrvatskom dijelu Jadranskog mora. *Zbornik radova 1. hrvatsko-slovenskog simpozija o egzotičnim i divljim životinjama*. Hrvatsko veterinarsko društvo. Zagreb, str. 16.



Gong, Q., Hart, B. A. (1997) Effect of thiols on cadmium-induced expression of metallothionein and other oxidant stress genes in rat lung epithelial cells. *Toxicology* **119**, 179-191.

Goon, D., Klaassen, C. D. (1989) Dosage-dependent absorption of cadmium in the rat intestine measured in situ. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **100**, 41–50.

Grandjean, P., Weihe, P., White, R. F. (1997) Cognitive deficit in 7-year-old children with prenatal exposure to methylmercury. *Neurotoxicol. Teratol.* **196**, 417-428.

Gray, J. S. (2002) Biomagnification in marine systems: the perspective of an ecologist. *Mar. Pollut. Bull.* **45**, 46-52.

Hansen, C. T., Nielsen, C. O., Dietz, R., Hansen, M. M. (1990) Zinc, cadmium, mercury and selenium in minke whales, belugas and narwhals from West Greenland. *Polar Biol.* **10**, 529-539.

Haraguchi, H. (1999) Multielement profiling analyses of biological, geochemical, and environmental samples as studied by analytical atomic spectrometry. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **72**, 1163–1186.

Harrison, R. M., Laxen, D. P. H. (1981) *Lead Pollution: Causes and Control*. Chapman and Hall, New York, str. 168.

Harper, E., Leger St., J. A., Westberg, J. A., Mazzaro, L., Schmitt, T., Reidarson, T. H. (2007) Tissue heavy metal concentrations of stranded California sea lions (*Zalophus californianus*) in southern California. *Environ. Pollut.* **147**, 677–682.



Hernandez-Avila, M., Smith, D., Meneses, F., Sanin, L. H., Hu, H. (1998) The influence of bone and blood lead on plasma lead levels in environmentally exposed adults. *Environ. Health Perspect.* **106**, 473-477.

Hobson, K. A., Riget, F. F., Outridge, P. M., Dietz, R., Born, E. (2004) Baleen as a biomonitor of mercury content and dietary history of North Atlantic minke whales (*Balaenoptera acutorostrata*): combining elemental and stable isotope approaches. *Sci. Total Environ.* **331**, 69–82.

Honda, K., Tatsukawa, R., Fujiyama, T. (1982) Distribution characteristics of heavy metals in the organs and tissues of striped dolphin *Stenella coeruleoalba*. *Agric. Biol. Chem.* **46**, 3011–3021.

Honda, K., Tatsukawa, R., Itano, K., Miyazaki, N., Fujiyama, T. (1983) Heavy metal concentrations in muscle, liver, and kidney tissue of striped dolphin, *Stenella coeruleoalba* and their variations with body length, weight, age and sex. *Agric. Biol. Chem.* **47**, 1219-1228.

Honda, K., Yamamoto, Y., Kato, H., Tatsukawa, R. (1987) Heavy metal accumulations and their recent changes in Southern minke whales *Balaenoptera acutorostrata*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **16**, 209-216.

Holsbeek, L., Siebert, U., Joiris, C. R. (1998) Heavy metals in dolphins stranded on the French Atlantic coast. *Sci. Total Environ.* **217**, 241-249.

Huckabee, J.W., Blaylock, B.G. (1973) Transfer of mercury and cadmium from terrestrial to aquatic ecosystems. In: Dhar SK, editor. Metal ions in biological systems. New York: Plenum Press;. 125–60.





Hudson, P. J., Vogt, R. L., Brondum, J., Witherell, L., Myers, G., Paschal, D. C. (1987) Elemental mercury exposure among children of thermometer plant workers. *Pediatrics* **79**, 935-938.

Hughes, M. F. (2002) Arsenic toxicity and potential mechanisms of action. *Toxicol. Lett.* **133**, 1-16.

Hylander, L. D., Meili, M. (2003) 500 years of mercury production: global annual inventory by region until 2000 and associated emissions. *Sci. Total Environ.* **304**, 13–27.

IARC (1993) Cadmium and cadmium compounds. U: Beryllium, Cadmium, Mercury and Exposure in the Glass Manufacturing Industry. *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, vol.58.*: WHO/IARC – World Health Organization/International Agency for Research on Cancer, Lyon, str. 119–237

Ikemoto, T., Kunito, T., Tanaka, H., Baba, N., Miyazaki, N., Tanabe, S. (2004) Detoxification mechanism of heavy metals in marine mammals and seabirds: interaction of selenium with mercury, silver, copper, zinc, and cadmium in liver. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **47**, 402-413.

Itano, K., Kawai, S., Miyazaki, N., Tatsukawa, R., Fujiyama, T. (1984a). Mercury and selenium levels in striped dolphins caught off the Pacific coast of Japan. *Agric. Biol. Chem.* **48**, 1109–1116.

Itano, K., Kawai, S., Miyazaki, N., Tatsukawa, R., Fujiyama, T. (1984b) Body burdens and distribution of mercury and selenium in striped dolphins. *Agric. Biol. Chem.* **48**, 1117–1121.



Itano, K., Kawai, S., Miyazaki, N., Tatsukawa, R., Fujiyama, T. (1984c) Mercury and selenium levels at the fetal and suckling stages of striped dolphin *Stenella coeruleoalba*. *Agric. Biol. Chem.* **48**, 1691–1698.

Jarup, L., Berglund, M., Elinder, C.G., Nordberg, G., Vahter, M. (1998) Health effects of cadmium exposure--a review of the literature and a risk estimate. *Scand. J. Work. Environ. Health.* **24**, 1–51.

Jarup, L. (2003) Hazards of heavy metal contamination. *Br. Med. Bull.* **68**, 167-182.

Jefferson, T. A., Leatherwood, S., Webbe, M.A. (1993) *Marine Mammals of the World*, FAO Species Identification Guide, United Nations Environment Programme, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.

Jernelov, A. (1986) Ecological and human health effects of mercury. *FAO Fish. Rep. No. 325*, str. 111-116.

Jones, D., Ronald, K., Lavigne, D. M., Frank, R., Holdrinet, M., Uthe, J. F. (1976) Organochlorine and mercury residues in the harp seal (*Pagophilus groenlandicus*). *Sci. Total Environ.* **5**, 181–195.

Jongen, W. M. F., Cardinaals, J. M., Bos, P. M. J. (1985) Genotoxicity testing of arsenobetaine, the predominant form of arsenic in marine fishery products. *Food Chem. Toxicol.* **23**, 669–673.

Kapaj, S., Peterson, H., Liber, K., Bhattacharya, P. (2006) Human health effects from chronic arsenic poisoning - a review. *J. Environ. Sci. Health A* **41**, 2399-2428.



Kirby, J., Maher, W. (2002) Tissue accumulation and distribution of arsenic compounds in three marine fish species: relationship to trophic position. *Appl. Organomet. Chem.* **16**, 108-115.

Klaassen, C.D. (1978) Effect of metallothionein on hepatic disposition of metals. *Am. J. Physiol.* **234**, 47-53.

Klaassen, C. D., Liu, J., Choudhuri, S. (1999) Metallothionein: an intracellular protein to protect against cadmium toxicity. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **39**, 267-294.

Klaassen, C. D., Liu, J., Diwan, B. A. (2009) Metallothionein protection of cadmium toxicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **238**, 215-220.

Koeman, J. H., Peeters, W. H. M., Koudstaal-Hoi, C. H. M., Tjoe, P. S. Goeij, J. J. M. (1973) Mercury-selenium correlation in marine mammals. *Nature* **245**, 385-386.

Koenig, S., Solé, M., Fernández-Gómez, C., Díez, S. (2013) New insights into mercury bioaccumulation in deep-sea organisms from the NW Mediterranean and their human health implications. *Sci. Total Environ.* **442**, 329-335.

Kosta, L., Byrne, A. R., Zelenko, V. (1975) Correlation between selenium and mercury in man following exposure to inorganic mercury. *Nature* **254**, 238-239.

Kubota, R., Kunito, T., Tanabe, S. (2001) Arsenic accumulation in the liver tissue of marine mammals. *Environ. Pollut.* **115**, 303-312.

Kubota, R., Kunito, T., Tanabe, S. (2002) Chemical speciation of arsenic in the livers of higher trophic marine animals. *Mar. Pollut. Bull.* **45**, 218-223.



Kuehl, D. W., Haebler, R., Potter, C. (1994) Coplanar PCB and metal residues in dolphins from the U.S. Atlantic coast including Atlantic bottlenose obtained during the 1987/1988 mass mortality. *Chemosphere* **28**, 1245–1253.

Kunito, T., Nakamura, S., Ikemoto, T., Anan, Y., Kubota, R., Tanabe, S., Rosas, F. C. W., Fillmann, G., Readman, J. W. (2004) Concentration and subcellular distribution of trace elements in liver of small cetaceans incidentally caught along the Brazilian coast. *Mar. Pollut. Bull.* **49**, 574-587.

Kunito, T., Kubota, R., Fujihara, J., Agusa, T., Tanabe, S. (2008) Arsenic in marine mammals, seabirds, and sea turtles. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* **195**, 31-69.

Kwohn, Y. T., Yamazaki, S., Okubo, A., Yoshimura, E., Tatsukawa, R., Toda, S. (1986) Isolation and characterization of metallothionein from kidney of striped dolphin, *Stenella coeruleoalba*. *Agric. Biol. Chem.* **50**, 2881-2885.

Lahaye, V., Bustamante, P., Spitz, J., Dabin, W., Das, K., Pierce, G.J., Caurant, F. (2005) Long-term dietary segregation of short-beaked common dolphins (*Delphinus delphis*) in the Bay of Biscay determined using cadmium as an ecological tracer. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **305**, 275–285.

Lahaye, V., Bustamante, P., Dabin, W., Van Canneyt, O., Dhermain, F., Cesarini, C., Pierce, G. J., Caurant, F. (2006) New insights from age determination on toxic element accumulation in striped and bottlenose dolphins from Atlantic and Mediterranean waters. *Mar. Pollut. Bull.* **52**, 1219-1230.

Lahaye, V., Bustamante, P., Law, R. J., Learmonth, J. A., Santos, M. B., Boon, J. P. (2007) Biological and ecological factors related to trace element levels in harbour porpoises (*Phocoena phocoena*) from European waters. *Mar. Environ. Res.* **64**, 247–266.



Lapierre, P., De Guise, S., Muir, D. C., Norstrom, R., Beland, P., Fournier, M. (1999) Immune functions in the Fisher rat fed beluga whale (*Delphinapterus leucas*) blubber from the contaminated St. Lawrence estuary. *Environ. Res.* **80**, 104-112.

Lavery, T. J., Butterfield, N., Kemper, C. M., Reid, R. J., Sanderson, K. (2008) Metals and selenium in the liver and bone of three dolphin species from South Australia, 1998–2004. *Sci. Total Environ.* **390**, 77–85.

Lavery, T. J., Kemper, C. M., Sanderson, K., Schultz, C. G., Coyle, P., Mitchell, J. G., Seuront, L. (2009) Heavy metal toxicity of kidney and bone tissues in South Australian adult bottlenose dolphins (*Tursiops aduncus*). *Mar. Environ. Res.* **67**, 1-7

Law, R. J., Fileman, C. F., Hopkins, A. D., Baker, J. R., Harwood, J., Jackson, D. B., Kennedy, S., Martin, A. R., Morris, R. J. (1991) Concentrations of trace metals in the livers of marine mammals (seals, porpoises and dolphins) from waters around the British Isles. *Mar. Pollut. Bull.* **22**, 183-191.

Law, R. J. (1996) Metals in marine mammals. U: *Environmental Contaminants in Wildlife Interpreting Tissue Concentrations* (Beyer, W., Heinz, G., Redmon-Norwood, A., ured.), Lewis Publishers, Boca Raton, str. 357–376.

Law, R. J., Allchin, C. R., Jones, B. R., Jepson, P. D., Baker, J. R., Spurrier, C. J. H. (1997) Metals and organochlorines in tissues of a Blainville's beaked whale (*Mesoplodon densirostris*) and a killer whale (*Orcinus orca*) stranded in the United Kingdom. *Mar. Pollut. Bull.* **34**, 208–212.

Law, R. J., Bennett, M. E., Blake, S. J., Allchin, C. R., Jones, B. R., Spurrier, C. J. H. (2001) Metals and organochlorines in pelagic cetaceans stranded on the coasts of England and Wales. *Mar. Pollut. Bull.* **42**, 522 –526.



Lazarus, M. (2010) Cadmium and selenium interaction in mammals. *Arh. Hig. Rada Toksikol.* **61**, 357-369.

Lemly, D. (1996) Selenium in aquatic organisms. U: *Environmental Contaminants in Wildlife Interpreting Tissue Concentrations* (Beyer, W., Heinz, G., Redmon-Norwood, A., ured.), Lewis Publishers, Boca Raton, str. 427–446.

Lemos, L. S., de Moura, J. F., Hauser-Davis, R. A., de Campos, R. C., Siciliano, S. (2013) Small cetaceans found stranded or accidentally captured in southeastern Brazil: Bioindicators of essential and non-essential trace elements in the environment, *Ecotox. Environ. Safe.* **97**, 166-175.

Leonzio, C., Focardi, S., Fossi, C. (1992) Heavy metals and selenium in stranded dolphins of the Northern Tyrrhenian (NW Mediterranean). *Sci. Total Environ.* **119**, 77–84.

Liu, J., Corton, C., Dix, D.J., Liu, Y., Waalkes, M.P., Klaassen, C.D. (2001) Genetic background but not metallothionein phenotype dictates sensitivity to cadmium-induced testicular injury in mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **176**, 1–9.

Liu, J., Goyer, R. A., Waalkes, M. P. (2008) Toxic effects of metals. U: *Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons, 7. izd.* (Casarett L. J., Doull, J., Klaassen, C. D., ured.), McGraw- Hill, New York, str. 931-979.

Lunde, G. (1967) Activation analysis of bromine, iodine, and arsenic in oils from fishes, whales, phyto- and zooplankton of marine and limnetic biotypes. *Int. Rev. ges. Hydrobiol.* **52**, 265–279.



Ma, W. C. (1996) Lead in mammals. U: *Environmental Contaminants in Wildlife Interpreting Tissue Concentrations* (Beyer, W., Heinz, G., Redmon-Norwood, A., ured.), Lewis Publishers, Boca Raton, str. 281–296.

Mackay, E. A., Demiralp, R., Becker, P. R., Greenberg, R. R., Koster, B. J., Wise, S. A. (1995) Trace element concentrations in cetacean liver tissues archived in the national marine mammal tissue bank. *Sci. Total Environ.* **175**, 25–41.

Marcus, W. L., Rispin, A. S. (1988) Threshold carcinogenicity using arsenic as an example. U: *Advances in Modern Environmental Toxicolog, Vol.15. Risk Assessment and Risk Management of Industrial and Environmental Chemicals*, (Cothorn, C. R., Mehlmans, M. A., Marcus, W. L., ured.), Princeton Publishing Co., Princeton, str. 133–158.

Margoshes, M., Vallee, B. L. (1957) A cadmium protein from equine kidney cortex. *J. Am. Chem. Soc.* **79**, 1813–1814.

Martineau, D., De Guise, S., Fournier, M., Shugart, L., Girard, C., Lagace, A., Beland, P. (1994) Pathology and toxicology of beluga whales from the St. Lawrence Estuary, Quebec, Canada. Past, present and future. *Sci. Total Environ.* **154**, 201-215.

Martoja, R., Berry, J. P. (1980) Identification of tiemmanite as a probable product of demethylation of mercury by selenium in cetaceans. A complement to the scheme of the biological cycle of mercury. *Vie Milieu* **30**, 7-10.

Mason, R., Heyes, D., Sveinsdottir, A. (2006) Methylmercury concentrations in fish from tidal waters of the Chesapeake Bay. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **51**, 425–37.



Meador, J. P., Ernest, D., Hohn, A. A., Tilbury, K., Gorzelany, J., Worthy, G., Stein, J. E. (1999) Comparison of elements in bottlenose dolphins stranded on the beaches of Texas and Florida in the Gulf of Mexico over a one-year period. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **36**, 87–98.

Mendez-Fernandez, P., Webster, L., Chouvelon, T., Bustamante, P., Ferreira, M., Gonzalez, A. F. (2014) An assessment of contaminant concentrations in toothed whale species of the NW Iberian Peninsula: part II. Trace element concentrations. *Sci. Total Environ.* **484**, 206–217.

Monaci, F., Borrel, A., Leonzio, C., Marsili, L., Calzada, N. (1998) Trace elements in striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) from the western Mediterranean. *Environ. Pollut.* **99**, 61-68.

Monteiro-Neto, C., Itavo, R. V., Moraes, L. E. (2003) Concentrations of heavy metals in *Sotalia fluviatilis* (Cetacea: Delphinidae) off the coast of Ceará, northeast Brazil. *Environ. Pollut.* **123**, 319-324.

Moore, M. M., Harrington-Brock, K., Doerr, C. L. (1997) Relative genotoxic potency of arsenic and its methylated metabolites. *Mutat. Res./Rev. Mutat.* **386**, 279-290.

Neff, J. M. (1997) Ecotoxicology of arsenic in the marine environment. *Environ. Toxicol. Chem.* **16**, 917–927.

Newairy, A. A., El-Sharakly, A. S., Badreldeen, M. M., Eweda, S. M., Sheweita, S. A. (2007) The hepatoprotective effects of selenium against cadmium toxicity in rats. *Toxicology* **242**, 23- 30.





Ng, P. S., Li, H., Matsumoto, K., Yamazaki, S., Kogure, T., Tagai, T., Nagasawa, H. (2001) Striped dolphin detoxicates mercury as insoluble Hg (S, Se) in the liver. *P. Jpn Acad. B-Phys.* **77**, 178-183.

Nielsen, C.O., Dietz, R. (1990) Distributional pattern of zinc, cadmium, mercury, and selenium in livers of hooded seal (*Cystophora cristata*). *Biol. Trace Elem. Res.* **24**, 61–71.

Nigro, M., Leonzio, C. (1993) Mercury selenide accumulation in dolphins. *European Research on Cetaceans.* **17**, 212–215.

Nigro, M., Leonzio, C., (1996) Intracellular storage of mercury and selenium in different marine vertebrates. *Mar. Ecol. – Prog. Ser.* **1351**, 137-143.

Nigro, M., Campana, A., Lanzillotta, E., Ferrara, R. (2002) Mercury exposure and elimination rates in captive bottlenose dolphins. *Mar. Pollut. Bull.* **44**, 1071-1075.

Nordberg, G. F. (1976) Effects and dose-response relationships of toxic metals. A report from an international meeting. *Scand. J. Work Env. Hea.* **2**, 37–43.

Nordberg, G. F. (2004) Cadmium and health in the 21st century-historical remarks and trends for the future. *Biometals* **17**, 485–489.

Nordberg, G. F. (2009) Historical perspectives on cadmium toxicology. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **238**, 192-20

Notarbartolo di Sciara, G., Demma, M. (1994) Guida dei Mammiferi Marini del Mediterraneo. Franco Muzzio Editore, Padova



Nriagu, J. O. (2002) Arsenic poisoning through the ages. U: *Environmental Chemistry of Arsenic* (Frankenberger, W. T. Jr., ured.) Marcel Dekker Inc., New York, str. 1–26.

Ognjanović, B. I., Marković, S. D., Pavlović, S. Z., Žikić, R. V., Štajn, A. S., Saičić, Z. S. (2008) Effect of chronic cadmium exposure on antioxidant defense system in some tissues of rats: protective effect of selenium. *Physiol. Res.* **57**, 403-411.

Ogrinc N, Monperrus M, Kotnik J, Fajon V., Vidimova, K., Amouroux, D. (2007) Distribution of mercury and methylmercury in deep-sea surficial sediments of the Mediterranean. *Sea. Mar. Chem.* **107**, 31–48.

O'Hara, T. M., Woshner, V., Bratton, G. (2003) Inorganic pollutants in Arctic marine mammals. U: *Toxicology of marine mammals* (Vos, J. G., Bossart, G. D., Fournier, M., O'Shea, T. J., ured.) Taylor & Francis, New York, str. 206–246.

Olafson, R. W., Thompson, J. A. J. (1974) Isolation of heavy metal binding proteins from marine vertebrates. *Mar. Biol.* **28**, 83-86.

O'Shea, T. J. (1999) Environmental contaminants and marine mammals. U: *Biology of Marine Mammals* (Reynolds III, J. E., Rommel, S. A., ured.), Smithsonian Institution Press, Washington, str. 485–563.

Palmisano, F., Cardellicchio, N., Zambonin, P. G. (1995) Speciation of mercury in dolphin liver: a two-stage mechanism for the demethylation accumulation process and role of selenium. *Mar. Environ. Res.* **40**, 109-121.

Park, J. D., Zheng, W. (2012) Human exposure and health effects of inorganic and elemental mercury. *J. Prev. Med. Public Health* **45**, 344-352.



Patrick, L. (2002) Mercury toxicity and antioxidants: Part 1; role of glutathione and alpha-lipoic acid in the treatment of mercury toxicity. *Altern. Med. Rev.* **7**, 456-471.

Pauly, D., Trites, A.W., Capuli, E., Christensen, V. (1998) Diet composition and trophic levels of marine mammals. *J. Mar. Sci.* **53**, 467-81.

Peakall, D., Burger, J. (2003) Methodologies for assessing exposure to metals: speciation, bioavailability of metals, and ecological host factors. *Ecotoxicol. Environ. Safe.* **56**, 110-121.

Podestà, M., Bortolotto, A. (2001) Il Progetto Spiaggiamenti del Centro Studi Cetacei: analisi dei risultati di 11 anni di attività. *Natura - Società Italiana di Scienze Naturali Museo Civico di Storia Naturale di Milano* **90**, 145-158

Poldan, I. (2004) Analiza čeljusti glavonožaca (Cephalopoda) iz želudaca dobrih dupina (*Tursiops truncatus*) iz Jadranskog mora. Studentski rad nagrađen Rektorovom nagradom 2004. god. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Zagreb, 2004.

Pompe-Gotal, J., Srebočan, E., Gomerčić, H., Prevendar Crnić, A. (2009) Mercury concentrations in the tissues of bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) and striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) stranded on the Croatian Adriatic coast. *Vet. Med-Cezsh.* **54**, 598–604.

Pravilnik o zaštiti pojedinih vrsta sisavaca (Mammalia) (1995) *Narodne novine* **31**, Zagreb.

Pravilnik o proglašavanju divljih svojti zaštićenim i strogo zaštićenim (2009) *Narodne novine* **99**, Zagreb.



Raimundo, J., Vale, C., Caetano, M., Giacomello, E., Anes, B., and Menezes, G.M. (2013) Natural trace element enrichment in fishes from a volcanic and tectonically active region (Azores archipelago). *Deep-Sea Res. Pt II.* **98**, 137-147.

Rand, G. M., Wells, P. G., McCarthy, L. S. (1995) Introduction to aquatic ecology. U: *Fundamentals of Aquatic Toxicology: Effects, Environmental Fate and Risk Assessment* (Rand, G. M., ured.), Taylor & Francis, London, str. 3–53.

Rawson, A. J., Bradley, J. P., Teetsov, A., Rice, S. B., Haller, E. M., Patton, G. W. (1995) A role for airborne particulate in high mercury levels of some cetaceans. *Ecotox. Environ. Safe.* **30**, 309-314.

Rawson, A., Paton, G., Hofman, S., Petra, G., Johns, L. (1993) Liver abnormalities associated with chronic mercury accumulation in stranded bottlenose dolphins. *Ecotox. Environ. Safe.* **25**, 41–47.

Reijnders, P. J. H. (1988) Ecotoxicological perspectives in marine mammalogy: research principles and goals for a conservation policy. *Mar. Mammal Sci.* **4**, 91–102.

Reeves, R. R., Stewar, B. S., Clapham, P. J., Powell, J. A. (2002) *Guide to Marine Mammals of the World*, Alfred A. Knopf, New York.

Ridlington, J. W., Chapman, D. C., Goeger, D. E., Whanger, P. D. (1981) Metallothionein and Cu-chelatin: characterization of metal-binding proteins from tissues of four marine animals. *Comp. Biochem. Physiol.* **70**, 93-104.

Ridgway, S. H., Patton, G. S. (1971) Dolphin thyroid: Some anatomical and physiological findings. *Z. Vergl. Physiol.* **71**, 129–141.



Ringelstein, J., Pusineri, C., Hassani, S., Meynier, L., Nicolas, R., Ridoux, V. (2006) The food and feeding ecology of the striped dolphin, *Stenella coeruleoalba*, in the oceanic Northeast Atlantic. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.* **98**, 909-918.

Roberts, T. M., Heppleston, P. B., Roberts, R. D. (1976) Distribution of heavy metals in tissues of the common seal. *Mar. Pollut. Bull.* **7**, 194–196.

Roditi-Elasar, M., Kerem, D., Hornung, H., Kress, N., Shoham-Frider, E., Goffman, O., Spanier, E. (2003) Heavy metal levels in bottlenose and striped dolphins off the Mediterranean coast of Israel. *Mar. Pollut. Bull.* **46**, 503-512.

Ronis, M. J. J., Badger, T. M., Shema, S. J., Roberson, P. K. (1998) Endocrine mechanisms underlying the growth effects of developmental lead exposure in the rat. *J. Toxicol. Environ. Health A* **54**, 101–120.

Roy, P., Saha, A. (2002) Metabolism and toxicity of arsenic: A human carcinogen. *Curr. Sci.* **82**, 38-45.

Saito, Y., Takahashi, K. (2000) Selenoprotein P: Its structure and functions. *J. Health Sci.* **46**, 409-413.

Saito, Y., Yoshida, Y., Akazawa, T., Takahashi, K., Niki, E. (2003) Cell death caused by selenium deficiency and protective effect of antioxidants. *J. Biol. Chem.* **278**, 39428-39434.

Sarkar, A., Ravindran, G., Krishnamurthy, V. A. (2013) A brief review on the effect of cadmium toxicity: From cellular to organ level. *Int. J. Bio-Technol. Res.* **3**, 17-36.



Sasakura, C., Suzuki, K. T. (1998) Biological interaction between transition metals (Ag, Cd and Hg), selenide/sulfide and selenoprotein P. *J. Inorg. Biochem.* **71**, 159-162.

Satoh, H. (2000) Occupational and environmental toxicology of mercury and its compounds. *Ind. Health* **38**, 153-164.

Seixas, T. G., Kehrig, H. A., Fillmann, G., DiBeneditto, A. P. M., Souza, C. M. M., Secchi, E. R. (2007) Ecological and biological determinants of trace elements accumulation in liver and kidney of *Pontoporia blainvillei*. *Sci. Total Environ.* **385**, 208–220.

Shenker, B. J., Guo, T. L., Shapiro, I. M. (2000) Mercury-induced apoptosis in human lymphoid cells: evidence that the apoptotic pathway is mercurial species dependent. *Environ. Res.* **84**, 89–99.

Shibata, Y., Morita, M., Fuwa, K. (1992) Selenium and arsenic in biology: their chemical forms and biological functions. *Adv. Biophys.* **28**, 31–80.

Shiomi, K. (1994) Arsenic in marine organisms: chemical forms and toxicological aspects. U: *Arsenic in the Environment, Part II: Human Health and Ecosystem Effects* (Nriagu, J. O., ed.), John Wiley & Sons Inc., New York, str. 261–282.

Shoham-Frider, E., Amiel, S., Roditi-Elasar, M., Kress, N. (2002) Risso's dolphin (*Grampus griseus*) stranding on the coast of Israel (eastern Mediterranean). Autopsy results and trace metal concentrations. *Sci. Total Environ.* **295**, 157-166.

Shoham-Frider, E., Kress, N., Wynne, D., Scheinin, A., Roditi-Elasar, M., Kerem, D. (2009) Persistent organochlorine pollutants and heavy metals in tissues of common bottlenose



dolphin (*Tursiops truncatus*) from the Levantine Basin of the Eastern Mediterranean. *Chemosphere* **77**, 621–627.

Siddiqui, M. F. (2010) Cadmium induced renal toxicity in male rats, *Rattus rattus*. *East. J. Med.* **15**, 93-99.

Siebert, U., Joiris, C., Holsbeek, L., Benke, H., Failing, K., Frese, K., Petzinger, E. (1999) Potential relation between mercury concentrations and necropsy findings in cetaceans from German waters of North and Baltic Seas. *Mar. Pollut. Bull.* **38**, 285–295.

Silbergeld, E. K., Schwartz, J., Mahaffey, K. (1988) Lead and osteoporosis - mobilization of lead from bone in postmenopausal women. *Environ. Res.* **47**, 79-94.

Skaare, J.U., Degre, E., Aspholm, P.E., Ugland, K.I., (1994) Mercury and selenium in Arctic and coastal seals off the coast of Norway. *Environ. Pollut.* **85**, 153–160.

Slijper, E. J. (1962) *Whales*. Hutchinson, London.

Stavros, H. C., Stolen, M., Durden, W. N., McFee, W., Bossart, G. D., Fair, P. A. (2011) Correlation and toxicological inference of trace elements in tissues from stranded and free-ranging bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *Chemosphere* **82**, 1649-1661.

Stohs, S.J., Bagchi, D., Hassoun, E., Bagchi, M. (2001) Oxidative mechanisms in the toxicity of chromium and cadmium ions. *J. Environ. Pathol. Tox.* **20**, 77-88.

Storelli, M. M., Ceci, E., Marcotrigiano, G. O. (1998) Comparison of total mercury, methylmercury, and selenium in muscle tissues and in the liver of *Stenella coeruleoalba* (Meyen) and *Caretta caretta* (Linnaeus). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **61**, 541–547.



Storelli, M. M., Zizzo, N., Marcotrigiano, G.O. (1999) Heavy metals and methylmercury in tissues of Risso's dolphin (*Grampus griseus*) and Cuvier's beaked whale (*Ziphius cavirostris*) stranded in Italy (South Adriatic Sea). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **63**, 703-710.

Storelli, M. M., Marcotrigiano, G. O. (2002) Subcellular distribution of heavy metals in livers and kidneys of *Stenella coeruleoalba* and *Tursiops truncatus* from the Mediterranean Sea. *Mar. Pollut. Bull.* **44**, 71–81.

Storelli, M. M., Giacomini-Stuffer, R., Marcotrigiano, G. (2002a) Mercury accumulation and speciation in muscle tissue of different species of sharks from Mediterranean Sea, Italy. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **68**, 201–210.

Storelli, M. M., Giacomini-Stuffer, R., Marcotrigiano, G. (2002b) Total and methylmercury residues in tuna-fish from the Mediterranean sea. *Food Addit. Contam.* **19**, 715–720.

Styblo, M., L.M. Del Razo, L. Vega, D.R. Germolec, E.L. LeCluyse, G.A. Hamilton, W. Reed, C. Wang, W.R. Cullen i D.J. Thomas. (2000) Comparative toxicity of trivalent and pentavalent inorganic and methylated arsenicals in rat and human cells. *Arch. Toxicol.*, **74**, 289-299.

Tao, S. S. H., Bolger, P. M. (1998) Dietary intakes of arsenic in the United States. U: *SEGH 3rd Inter. Conf. Arsenic Expos. Health Effect* (Chappel, W.R., Abernathy, C.O., Calderon, R.L., ured), str. 85.

Thompson, D. R. (1990) Heavy metals in marine vertebrates. U: *Heavy Metals in the Marine Environment* (Furnes, R. W., Rainbow, P. S., ured.), CRC Press, London, str. 143–182.





Thompson, D. R. (1996) Mercury in birds and terrestrial mammals. U: *Environmental Contaminants in Wildlife Interpreting Tissue Concentrations* (Beyer, W., Heinz, G., Redmon-Norwood, A., ured.), CRC Press, Boca Raton, str. 341–356.

Tohyama, C., Himeno, S. I., Watanabe, C., Suzuki, T., Morita, M. (1986) The relationship of the increased level of metallothionein with heavy metal levels in the tissue of the harbor seal (*Phoca vitulina*). *Ecotox. Environ. Safe.* **12**, 85-94.

Tosti, E., Gallo, A. (2012) Best biomarker and bioindicator for marine environmental pollution. *J. Marine Sci. Res. Development* **2**, 101.

USEPA (2006) *Mercury Transport and Fat through a Watershed: Synthesis Report of Research from EPA's Science to Achieve Results (STAR) Grant Program*, Environmental Protection Agency, Office of Research and Development, Washington, str. 1–24.

Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M. (2006) Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem. Biol. Interact.* **160**, 1-40.

Van der Schalie, W. H., Gardner, H. S., Bantle, J. A., De Rosa, C. T., Finch, R. A., Reif, J. S., Reuter, R. H., Backer, L. C., Burger, J., Folmar, L. C., Stokes, W. S. (1999) Animals as sentinels of human health hazards of environmental chemicals. *Environ. Health Persp.* **107**, 309-315.

Vos, J. G., Bossart, G. D., Fournier, M., O'Shea, T. J. (2003) *Toxicology of Marine Mammals*. Taylor & Francis, London/New York.

Waalkes, M. P. (2003) Cadmium carcinogenesis. *Mutat. Res.* **533**, 107-120



Wagemann, R., Snow, N. B., Lutz, A., Scott, D. P. (1983) Heavy metals in tissues and organs of the narwhal (*Monodon monoceros*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **40**, 206-214.

Wagemann, R., Muir, D. (1984) Concentrations of heavy metals and organochlorines in marine mammals of Northern waters: overview and evaluation. *Canadian Tech. Rpts. Fish. Aquatic. Sci.* **1279**, 1–97

Wagemann, R., Hobden, B. (1986) Low molecular weight metalloproteins in tissues of the narwhal (*Monodon Monoceros*). *Comp. Biochem. Physiol.* **84C**, 325-344.

Wagemann, R., Stewart, R. E. A., Lockhart, W. L., Stewart, B. E. (1988) Trace metals and methyl mercury: associations and transfer in harp seal (*Phoca groenlandica*) mothers and their pups. *Mar. Mammal Sci.* **4**, 339–355.

Wagemann, R., Lockhart, L. W., Welch, H., Innes, S. (1995) Arctic marine mammals as integrators and indicators of mercury in the Arctic. *Water Air Soil Pollut.* **80**, 683–693.

Wagemann, R., Trebacz, E., Boila, G., Lockhart, W. L. (2000) Mercury species in the liver of ringed seals. *Sci. Total Environ.* **261**, 21–32.

Walsh, T. J., Tilson, H. A. (1984) Neurobehavioral toxicology of the organoleads. *Neurotoxicology* **5**, 67–86.

Wang, Y., Fang, J., Leonard, S. S., Rao, K. M. K. (2004) Cadmium inhibits electron transfer chain and induced reactive oxygen species. *Free Radical Biol. Med.* **36**, 1434-1443.



Watanabe, C., Satoh, H. (1996) Evolution of our understanding of methylmercury as a health threat. *Environ. Health Perspect.* **104**, 367–79.

Wells, R. S., Rhinehart, H. L., Hansen, L. J., Sweeny, J. C., Townsend, F. I., Stone, R. (2004) Bottlenose dolphins as marine ecosystem sentinels: developing a health monitoring system. *EcoHealth* **1**, 246–254.

WHO (1976) *Mercury. Environmental Health Criteria 1*. World Health Organization Geneva.

WHO (1992) *Cadmium. Environmental Health Criteria, 134*. World Health Organization, Geneva.

WHO (1995) *Environmental Health Criteria for Inorganic Lead, International Programme on Chemical Safety (EHC 165)*, World Health Organization, Geneva.

WHO (2001a) *Arsenic and arsenic compounds. Environmental Health Criteria 224*. World Health Organization, Geneva.

WHO (2001b) Lead. U: *Air Quality Guidelines*, 2. izd., World Health Organization Regional Office for Europe, Copenhagen, str. 1–17.

Wong, K.L., Klaassen, C.D. (1982) Neurotoxic effects of cadmium in young rats. *Toxicol Appl Pharmacol.* **63**, 330–337.

Wu, Q., Huang, K. (2004) Effect of long-term Se deficiency on the antioxidant capacities of rat vascular tissue. *Biol. Trace Elem. Res.* **98**, 73–84.



Yang, J., Kunito, T., Tanabe, S., Miyazaki, N. (2007) Mercury and its relation with selenium in the liver of Dall's porpoises (*Phocoenoides dalli*) off the Sanriku coast of Japan. *Environ. Pollut.* **148**, 669–673.

Yin, X., Liu, X., Sun, L., Zhu, R., Xie, X., Wang, Y. (2006) A 1500-year record of lead, copper, arsenic, cadmium, zinc level in Antarctic seal hairs and sediments. *Sci. Total Environ.* **371**, 252–257.

Zakon o potvrđivanju konvencije o zaštiti migratornih vrsta divljih životinja (Bonnska konvencija) (2000a) *Narodnenovine – međunarodni ugovori* **6**, Zagreb.

Zakon o potvrđivanju sporazuma o zaštiti kitova (Cetacea) u Crnom moru, Sredozemnom moru i susjednom atlantskom području (ACCOBAMS) (2000b) *Narodne novine – međunarodni ugovori* **6**, Zagreb.

Zakon o zaštiti prirode (2003) *Narodne novine.* **162**, Zagreb.

Zakon o potvrđivanju konvencije o zaštiti migratornih vrsta divljih životinja (Bonnska konvencija) (2000) *Narodne novine – međunarodni ugovori.* **6**, Zagreb.

Zakon o potvrđivanju sporazuma o zaštiti kitova (Cetacea) u Crnom moru, Sredozemnom moru i susjednom atlantskom području (ACCOBAMS) (2000b) *Narodne novine – međunarodni ugovori.* **6**, Zagreb.

Zakon o zaštiti životinja (2006a) *Narodne novine.* **135**, Zagreb.

Zakon o potvrđivanju međunarodne konvencije za regulaciju kitolova (2006b) *Narodne novine – međunarodni ugovori.* **6**, Zagreb.



---

Zalups, R. K., Ahmad, S. (2003) Molecular handling of cadmium in transporting epithelia. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **186**, 163-188.

Zhou, J. L., Salvador, S. M., Liu, Y. P., Sequeira, M. (2001) Heavy metals in the tissues of common dolphins (*Delphinus delphis*) stranded on the Portuguese coast. *Sci. Total Environ.* **273**, 61-76.

Zhu, J., Chen, Z., Lallemand-Breitenbach, V., Thé, H. (2002) How acute promyelocytic leukaemia revived arsenic. *Nat. Rev. Cancer* **2**, 705-713.

Zonfrillo, B., Sutcliffe, R., Furness, R. W., Thompson, D. R. (1988) Notes on a Risso's dolphin from Argyll with analysis of its stomach contents and mercury levels. *Glasg. Nat.* **21**, 297-303.

## **7. PRILOZI**



**Prilog 1:** Usporedni prikaz koncentracija kadmija u tkivima jedinki vrsta dobrog dupina (*Tursiops truncatus*), plavobijelog dupina (*Stenella coeruleoalba*) i glavatog dupina (*Grampus griseus*)

	Cd (mg/kg) mokre težine								
	Kategorija	mišić	bubreg	jetra	slezena	pluća	masno tk,	koža	
Dobri dupin ( <i>Tursiops truncatus</i> )	Ž-mlade	0,002	0,250	0,051	0,011	0,181	0,080	0,035	SR, V,
	Ž-odrasle	0,019	1,676	0,394	0,048	0,037	0,004	0,013	SR, V,
	M-mladi	0,003	1,036	0,241	0,015	0,026	0,004	0,005	SR, V,
	M-odrasli	0,239	2,504	0,534	0,061	0,044	0,033	0,007	SR, V,
	Ž-mlade	0,001	0,050	0,006	0,003	0,005	0,002	0,002	MED
	Ž-odrasle	0,007	1,277	0,237	0,041	0,028	0,004	0,006	MED
	M-mladi	0,001	0,207	0,030	0,004	0,007	0,001	0,004	MED
	M-odrasli	0,007	1,887	0,304	0,038	0,030	0,003	0,006	MED
	Ž-mlade	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	m
	Ž-mlade	0,024	2,212	0,435	0,085	5,022	1,447	0,277	M
	Ž-odrasle	0,001	0,009	0,052	0,004	0,001	0,001	0,003	m
	Ž-odrasle	0,324	4,157	2,098	0,234	0,236	0,009	0,075	M
	M-mladi	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	m
	M-mladi	0,026	8,697	2,848	0,051	0,385	0,024	0,015	M
	M-odrasli	0,001	0,002	0,002	0,005	0,003	0,001	0,002	m
	M-odrasli	9,598	14,178	4,482	0,418	0,178	0,630	0,021	M
Plavobijeli dupin ( <i>Stenella coeruleoalba</i> )	mužjak	0,030	9,846	3,595	0,319	0,200	0,017	0,032	SR, V,
	ženka	0,032	6,366	2,756	0,427	0,171	0,014		SR, V,
	mužjak	0,030	8,679	2,639	0,227	0,150	0,016	0,034	MED
	ženka	0,020	4,485	2,427	0,304	0,147	0,016		MED
	mužjak	0,006	0,271	0,822	0,089	0,088	0,002	0,013	m
	mužjak	0,076	18,509	9,560	0,867	0,581	0,033	0,049	M
	ženka	0,001	0,323	0,045	0,191	0,003	0,001		m
	ženka	0,140	13,612	9,108	1,193	0,549	0,024		M
Glaati dupin ( <i>Grampus griseus</i> )		0,070	11,167	4,482	0,649	0,128			SR, V,
		0,062	13,793	3,847	0,519	0,118			MED
		0,028	2,803	0,569	0,240	0,090			m
		0,156	16,821	11,848	1,063	0,194			M

Oznake u Tablici: M-maksimalna vrijednost; m-minimalna vrijednost; MED-median; SR,V,-srednja vrijednost



**Prilog 2:** Usporedni prikaz koncentracija olova u tkivima jedinki vrsta dobrog dupina (*Tursiops truncatus*), plavobijelog dupina (*Stenella coeruleoalba*) i glavatog dupina (*Grampus griseus*)

	Pb (mg/kg) mokre težine								
	Kategorija	mišić	bubreg	jetra	slezena	pluća	masno tk,	koža	
Dobri dupin ( <i>Tursiops truncatus</i> )	Ž-mlade	0,083	0,142	0,066	0,151	0,235	0,252	0,130	SR, V,
	Ž-odrasle	0,062	0,174	0,174	0,147	0,256	0,046	0,341	SR, V,
	M-mladi	0,051	0,151	0,105	0,076	0,089	0,070	0,108	SR, V,
	M-odrasli	0,055	0,070	0,157	0,057	1,764	0,062	0,069	SR, V,
	Ž-mlade	0,022	0,067	0,037	0,042	0,049	0,072	0,044	MED
	Ž-odrasle	0,018	0,057	0,129	0,053	0,086	0,046	0,027	MED
	M-mladi	0,016	0,068	0,062	0,048	0,059	0,043	0,081	MED
	M-odrasli	0,015	0,044	0,096	0,015	0,034	0,038	0,017	MED
	Ž-mlade	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	m
	Ž-mlade	0,317	0,974	0,254	1,612	3,998	0,577	0,351	M
	Ž-odrasle	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	m
	Ž-odrasle	0,372	1,594	1,097	2,101	4,329	0,139	1,685	M
	M-mladi	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	m
	M-mladi	0,288	1,317	0,603	0,208	0,472	0,322	0,135	M
	M-odrasli	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	m
	M-odrasli	0,368	0,399	0,573	0,439	67,8	0,239	0,485	M
Plavobijeli dupin ( <i>Stenella coeruleoalba</i> )	mužjak	0,076	0,100	0,182	0,115	0,134	0,050	0,136	SR, V,
	ženka	0,053	0,115	0,088	0,227	0,176	0,107		SR, V,
	mužjak	0,022	0,059	0,067	0,023	0,034	0,051	0,139	MED
	ženka	0,018	0,057	0,079	0,025	0,065	0,102		MED
	mužjak	0,01	0,01	0,034	0,01	0,01	0,013	0,047	m
	mužjak	0,689	0,354	1,456	0,497	1,286	0,111	0,219	M
	ženka	0,01	0,024	0,039	0,014	0,01	0,084		m
	ženka	0,279	0,57	0,101	1,474	1,04	0,135		M
Glavati dupin ( <i>Grampus griseus</i> )		0,02	0,08	0,57	0,06	0,06			SR, V,
		0,015	0,088	0,579	0,035	0,057			MED
		0,01	0,035	0,191	0,01	0,01			m
		0,03	0,109	1,146	0,17	0,099			M

Oznake u Tablici: M-maksimalna vrijednost; m-minimalna vrijednost; MED-median; SR,V,-srednja vrijednost





**Prilog 3:** Usporedni prikaz koncentracija arsena u tkivima jedinki vrsta dobrog dupina (*Tursiops truncatus*), plavobijelog dupina (*Stenella coeruleoalba*) i glavatog dupina (*Grampus griseus*)

	As(mg/kg) mokre težine								
	Kategorija	mišić	bubreg	jetra	slezena	pluća	masno tk,	koža	
Dobri dupin ( <i>Tursiops truncatus</i> )	Ž-mlade	0,271	0,380	0,367	0,287	0,279	0,568	0,334	SR,V,
	Ž-odrasle	0,261	0,421	0,563	0,330	0,236	1,311	0,590	SR,V,
	M-mladi	0,217	0,381	0,484	0,295	0,221	0,767	0,275	SR,V,
	M-odrasli	0,386	0,711	1,015	0,541	0,522	1,104	0,432	SR,V,
	Ž-mlade	0,243	0,308	0,3045	0,223	0,25	0,549	0,303	MED
	Ž-odrasle	0,214	0,33	0,422	0,255	0,213	0,35	0,514	MED
	M-mladi	0,167	0,300	0,570	0,374	0,339	0,889	0,323	MED
	M-odrasli	0,347	0,594	0,570	0,374	0,339	0,889	0,323	MED
	Ž-mlade	0,031	0,028	0,019	0,03	0,031	0,153	0,08	m
	Ž-mlade	1,018	1,108	1,056	0,656	0,706	1,891	0,982	M
	Ž-odrasle	0,015	0,017	0,037	0,027	0,01	0,187	0,292	m
	Ž-odrasle	0,637	1,788	4,275	1,868	0,749	3,939	1,349	M
	M-mladi	0,039	0,032	0,032	0,01	0,01	0,205	0,138	m
	M-mladi	0,652	1,722	0,767	2,835	0,623	2,78	1,45	M
	M-odrasli	0,028	0,027	0,035	0,045	0,022	0,051	0,191	m
	M-odrasli	1,395	1,895	8,948	3,984	4,358	2,311	0,914	M
Plavobijeli dupin ( <i>Stenella coeruleoalba</i> )	mužjak	0,285	0,558	1,072	0,472	0,406	1,564	0,648	SR,V,
	ženka	0,322	0,589	1,417	0,726	0,562	1,329		SR,V,
	mužjak	0,215	0,53	0,812	0,423	0,359	1,419	0,577	MED
	ženka	0,312	0,511	0,94	0,687	0,469	0,944		MED
	mužjak	0,033	0,058	0,074	0,027	0,031	0,432	0,319	m
	mužjak	0,911	1,895	4,184	1,361	1,446	4,06	1,119	M
	ženka	0,087	0,177	0,276	0,305	0,168	0,785		m
	ženka	0,736	1,118	5,06	1,263	1,436	2,259		M
Glavati dupin ( <i>Grampus griseus</i> )		1,02	2,04	3,93	0,97	0,83			SR,V,
		0,966	1,255	2,262	1,013	0,819			MED
		0,324	0,342	0,444	0,214	0,168			m
		1,976	4,733	12,878	2,265	1,806			M

Oznake u Tablici: M-maksimalna vrijednost; m-minimalna vrijednost; MED-median; SR,V,-srednja vrijednost



**Prilog 4:** Usporedni prikaz koncentracija žive u tkivima jedinki vrsta dobrog dupina (*Tursiops truncatus*), plavobijelog dupina (*Stenella coeruleoalba*) i glavatog dupina (*Grampus griseus*)

	Hg (mg/kg) mokre težine								
	Kategorija	mišić	bubreg	jetra	slezena	pluća	masno tk,	koža	
Dobri dupin ( <i>Tursiops truncatus</i> )	Ž-mlade	3,921	4,021	38,983	11,768	2,761	5,242	10,495	SR,V,
	Ž-odrasle	24,521	23,663	355,69	64,084	11,250	1,698	2,477	SR,V,
	M-mladi	1,413	3,862	64,374	10,978	0,808	0,330	0,727	SR,V,
	M-odrasli	12,153	16,253	247,70	31,024	7,005	6,352	10,667	SR,V,
	Ž-mlade	0,435	0,908	2,064	0,403	0,236	0,151	0,639	MED
	Ž-odrasle	13,180	18,290	256,50	17,490	5,813	1,053	1,777	MED
	M-mladi	0,709	2,203	3,782	0,516	0,402	0,181	0,475	MED
	M-odrasli	7,887	9,328	141,82	12,810	3,406	1,194	1,830	MED
	Ž-mlade	0,035	0,073	0,069	0,085	0,025	0,017	0,259	m
	Ž-mlade	99,470	36,630	933,10	207,80	69,450	83,560	87,140	M
	Ž-odrasle	0,268	2,143	4,170	0,350	0,359	0,176	0,074	m
	Ž-odrasle	142,90	171,10	2238,0	499,70	60,720	6,242	7,067	M
	M-mladi	0,053	0,058	0,166	0,001	0,001	0,001	0,105	m
	M-mladi	11,250	35,790	1014,60	318,10	460,0	2,566	2,568	M
M-odrasli	0,394	0,081	0,401	0,096	0,324	0,195	0,464	m	
M-odrasli	77,281	219,13	1790,2	518,90	88,246	69,330	101,30	M	
Plavobijeli dupin ( <i>Stenella coeruleoalba</i> )	mužjak	9,541	8,546	80,646	32,798	17,874	1,785	1,423	SR,V,
	ženka	13,158	8,457	156,43	102,07	35,856	0,539		SR,V,
	mužjak	4,684	3,144	67,066	27,140	11,485	0,852	1,321	MED
	ženka	12,660	6,408	97,465	89,455	33,029	0,353		MED
	mužjak	0,319	0,836	10,510	1,340	1,793	0,285	0,386	m
	mužjak	48,430	38,530	196,80	94,660	60,031	10,997	2,663	M
	ženka	0,920	0,455	1,320	1,026	0,072	0,109		m
ženka	34,252	25,620	679,0	224,0	78,595	1,154		M	
Glavati dupin ( <i>Grampus</i> )		33,930	27,109	806,66	533,56	60,398			SR,V,
		23,747	29,317	870,288	377,786	68,920			MED
		14,230	5,997	64,860	18,560	14,720			m
		73,080	41,810	1738,11	1304,30	101,85			M

Oznake u Tablici: M-maksimalna vrijednost; m-minimalna vrijednost; MED-median; SR,V,-srednja vrijednost



**Prilog 5:** Usporedni prikaz koncentracija selena u tkivima jedinki vrsta dobrog dupina (*Tursiops truncatus*), plavobijelog dupina (*Stenella coeruleoalba*) i glavatog dupina (*Grampus griseus*)

	Se (mg/kg) mokre težine				
	Kategorija	bubreg	jetra	pluća	
Dobri dupin ( <i>Tursiops truncatus</i> )	Ž-mlade	2,137	20,060	1,426	SR,V,
	Ž-odrasle	18,667	362,561	6,718	SR,V,
	M-mladi	3,614	33,889	1,311	SR,V,
	M-odrasli	9,834	195,728	4,674	SR,V,
	Ž-mlade	1,242	1,327	1,038	MED
	Ž-odrasle	7,4795	210,15	2,216	MED
	M-mladi	2,364	1,796	0,945	MED
	M-odrasli	5,2905	103,429	2,093	MED
	Ž-mlade	0,252	0,362	0,186	m
	Ž-mlade	13,413	39,987	3,782	M
	Ž-odrasle	1,878	2,342	0,217	m
	Ž-odrasle	119,087	2915,47	41,227	M
	M-mladi	0,426	0,123	0,271	m
	M-mladi	32,104	800,825	4,654	M
	M-odrasli	0,01	1,022	0,374	m
	M-odrasli	137,126	1029,06	38,161	M
Plavobijeli dupin ( <i>Stenella coeruleoalba</i> )	mužjak	4,699	79,909	10,782	SR,V,
	ženka	6,367	114,316	21,597	SR,V,
	mužjak	4,402	80,688	8,588	MED
	ženka	5,779	89,578	16,407	MED
	mužjak	1,384	5,849	2,185	m
	mužjak	8,979	171,561	33,684	M
	ženka	1,693	1,995	3,196	m
	ženka	11,585	430,32	44,355	M
Glavati dupin ( <i>Grampus griseus</i> )		21,57	529,71	35,64	SR,V,
		15,258	528,785	38,086	MED
		5,096	95,912	7,652	m
		58,275	1069,36	58,015	M

Oznake u Tablici: M-maksimalna vrijednost; m-minimalna vrijednost; MED-median; SR,V,-srednja vrijednost

## **8. ŽIVOTOPIS I POPIS RADOVA**



---

Marija Sedak, dipl.inž. rođena je 16. rujna 1976. godine u Zagrebu, gdje je završila osnovnu školu i Kemijsku i geološku tehničku školu. 1995. godine upisuje Prehrambeno-biotehnološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu na kojem diplomira 1999. godine. Godine 2006. zapošljava se kao stručni suradnik u Hrvatskom veterinarskom institutu u Laboratoriju za određivanje rezidua. Sudjelovala je na edukacijama i radionicama u zemlji i inozemstvu gdje je usavršavala znanje i vještine iz područja.



## POPIS OBJAVLJENIH ZNANSTVENIH RADOVA

### Izvorni znanstveni i pregledni radovi u CC i SCI časopisima

Bilandžić, N., Sedak, M., Čalopek, B., Džafić, N., Mišetić Ostojić, D., Potočnjak, D. (2015) Metal content in four shellfish species from the Istrian coast of Croatia. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **95**

Bilandžić, N., Sedak, M., Čalopek, B., Zrnčić, S., Oraić, D., Benić, M., Džafić, N., Mišetić Ostojić, D., Bogdanović, T., Petričević, S., Ujević, I. (2015) Element differences and evaluation of the dietary intake from farmed oysters and mussels collected at different sites along the Croatian coast of the Adriatic Sea. *J. Food Comp. Anal.* **45**

Bilandžić, N., Sedak, M., Đokić, M., Božić, Đ. (2015) Determination of macro and microelements in cow, goat and human milk using inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Spectrosc Lett.* **48**, 677-684.

Bilandžić, N., Sedak, M., Đokić, M., Božić, Đ., Vrbić, A. (2015) Content of macro- and microelements and evaluation of the intake of different dairy products consumed in Croatia. *J. Food Comp. Anal.* **40**, 143-147.

Bilandžić, N., Gačić, M., Đokić, M., Sedak, M.; Ivanec Šipušić, Đ., Končurat, A., Tlak Gajger, I. (2014) Major and trace elements levels in multifloral and unifloral honeys in Croatia. *J. Food Comp. Anal.* **33**, 132-138.



Bilandžić, N., Sedak, M., Đokić, M., Varenina, I., Solomun Kolanović, B., Božić, Đ., Brstilo, M., Šimić, B. (2014) Determination of zinc concentrations in foods of animal origin, fish and shellfish from Croatia and assessment of their contribution to dietary intake. *J. Food Comp. Anal.* **35**, 61-66.

Bilandžić, N., Sedak, M., Đokić, M., Božić, Đ., Solomun Kolanović, B., Varenina, I. (2014) Trace elements content in cheese, cream and butter. *Mljekarstvo* **64**, 150-158.

Bogdanović, T., Ujević, I., Sedak, M., Listeš, E., Šimat, V., Petričević, S., Poljak, V. (2014) As, Cd, Hg and Pb in four edible shellfish species from breeding and harvesting areas along the eastern Adriatic Coast, Croatia. *Food. Chem.* **146**, 197-203.

Jakovljević, T., Cvjetko Bubalo, M., Orlović, S., Sedak, M., Bilandžić, N., Brozinčević, I., Radojčić Redovniković, I. (2014) Adaptive response of Poplar (*Populus nigra* var. *italica*) after long-term Cd exposure. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* **21**, 3792-3802.

Bilandžić, N., Sedak, M., Solomun Kolanović, B., Varenina, I., Božić, Đ., Končurat, A. (2014) Differences of the essential mineral element levels in the milk of Croatian Coldblood horse and Littoral-Dinaric donkey. *Mljekarstvo* **64**, 12-18.

Bilandžić, N., Sedak, M., Đokić, M., Varenina, I., Solomun Kolanović, B., Božić, Đ., Končurat, A. (2014) Content of macro- and microelements in the milk of Croatian coldblood mares during lactation. *Slov. Vet. Res.* **51**, 171-177.



Bilandžić, N., Sedak, M., Đokić, M., Zrnčić, S., Oraić, D., Varenina, I., Solomun Kolanović, B., Božić, Đ. (2014) Copper, iron, selenium, zinc and magnesium concentrations in oysters (*Ostrea edulis*) from the Croatian Adriatic coast. *Slov. Vet. Res.* **51**, 147-155.

Jakovljević, T., Cvjetko, M., Sedak, M., Đokić, M., Bilandžić, N., Vorkapić-Furač, J., Radojčić Redovniković, I. (2013) Balance of glucosinolates content under Cd stress in two *Brassica* species. *Plant. Physiol. Biochem.* **63**, 99-106.

Bilandžić, N., Sedak, M., Đokić, M., Solomun Kolanović, B., Varenina, I., Božić, Đ., Končurat, A. (2013) Concentrations of microelements Al, Co, Cr, Li, Mo, Ni, Sb and Sr in the milk of Croatian Coldblood mares. *Mljekarstvo* **63**, 150-157.

Bilandžić, N., Sedak, M., Đokić, M., Varenina, I., Solomun Kolanović, B., Božić, Đ., Brstilo, M., Sokolić-Mihalak, D., Jurković, Z. (2013) Comparative study of iron, magnesium and zinc and daily intakes in certain meats and meat products. *Slov. Vet. Res.* **50**, 103-110.

Bilandžić, N., Deždek, D., Đokić, M., Sedak, M., Šimić, B., Rudan, N., Brstilo, M., Lisicin, T. (2012) Trace elements in tissues of wild carnivores and omnivores in Croatia. *Environ. Monit. Assess.* **88**, 94-99.

Bilandžić, N., Sedak, M., Đokić, M., Đuras Gomerčić, M., Gomerčić, T., Zadravec, M., Benić, M., Prevendar Crnić, A. (2012) Toxic Element Concentrations In The Bottlenose (*Tursiops truncatus*), Striped (*Stenella coeruleoalba*) And Risso's (*Grampus Griseus*) Dolphins Stranded In Eastern Adriatic Sea. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **89**, 467-473.





Bilandžić, N., Sedak, M., Đokić, M., Solomun Kolanović, B., Varenina, I., Božić, Đ., Šimić, B., Končurat, A., Brstilo, M. (2012) Lead content in multifloral honey from central Croatia over a three-year period. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **88**, 985-989.

Bilandžić, N., Sedak, M., Đokić, M., Varenina, I., Solomun Kolanović, B., Oraić, D., Zrnčić, S. (2012) Determination of copper in food of animal origin and fish in Croatia. *Food. Chem.* **27**, 284-288.

Bilandžić, N., Đokić, M., Sedak, M., Solomun, B., Varenina, I., Končurat, A., Rudan, N. (2011) Determination of trace elements in Croatian floral honey originating from different regions. *Food. Chem.* **128**, 1160-1164.

## Znanstveni radovi u drugim časopisima

Bilandžić, N., Sedak, M., Čalopek, B., Đokić, M., Solomun Kolanović, B., Varenina, I., Božić, Đ., Varga, I., Đafić, N., Mišetić, D., Zrnčić, S., Oraić, D. (2015) Razlike u sadržaju kemijskih elemenata školjkaša sa obalnih uzgajališta Istre. *Vet. stanica* **46** (1), 9-17.

Bilandžić, N., Sedak, M., Đokić, M., Božić, Đ., Vrbić, A. (2014) Koncentracije esencijalnih elemenata u pet vrsta sira sa hrvatskog tržišta. *Vet. stanica* **45**, 5-11.

Đokić, M., Bilandžić, N., Sedak, M. (2014) Krom - metabolizam i biološke funkcije. *Vet. stanica* **45**, 381-392.



Bilandžić, N., Đokić, M., Sedak, M., Božić, Đ. (2013) Koncentracije organoklornih pesticida i polikloriranih bifenila u masti, mesu svinja i goveda te mesnim proizvodima. *Vet. stanica* **44**, 425-435.

Bilandžić, N., Đokić, M., Sedak, M., Sokolić-Mihalak, D., Jurković, M., Gross Bošković, A. (2013) Razlike u koncentracijama bakra u mesnim proizvodima, ribi i školjkama. *Meso* **4**, 275-280.

Bilandžić, N., Sedak, M., Đokić, M., Solomun Kolanović, B., Varenina, I., Božić, Đ., Končurat, A. (2013) Usporedna studija sadržaja makro i esencijalnih elemenata u mlijeku različitih životinjskih vrsta, žena te sojinom mlijeku. *Vet. stanica* **44**, 97-105.

Bilandžić, N., Sedak, M., Đokić, M., Somun Kolanović, B., Varenina, I., Božić, Đ., Zrnčić, S., Oraić, D. (2013) Koncentracije toksičnih elemenata kadmija i olova u kamenicama (*Ostrea edulis*). *Vet. stanica* **44**, 27-34.